Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Abteilung für submikroskopische Pathologie und Neuropathologie
(Leiter: Professor Dr. med. W. Schlote)

SCHNELLER AXONALER TRANSPORT 3H – LEUCIN – MARKIERTER PROTEINE IM INTAKTEN UND ISOLIERTEN NERVUS OPTICUS DER RATTE

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von
HELMUT ELMAR WAGNER
aus Ulm/Donau

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548919_0019

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Abteilung für submikroskopische Pathologie und Neuropathologie
(Leiter: Professor Dr. med. W. Schlote)

SCHNELLER AXONALER TRANSPORT 3H – LEUCIN – MARKIERTER PROTEINE IM INTAKTEN UND ISOLIERTEN NERVUS OPTICUS DER RATTE

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von
HELMUT ELMAR WAGNER
aus Ulm/Donau

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. med. H. Haselmann
1. Berichterstatter:	Professor Dr. med. W. Schlote
2. Berichterstatter:	Professor Dr. med. E. Betz

---

gedruckt bei H.- J. Köhler , Reprografischer Betrieb , Tübingen

Inhaltsverzeichnis

A Einleitung S. 1

B Der schnelle axonale Transport S. 3

I. Die Rolle des Perikaryons S. 3

II. Die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transportes S. 5

III. Das transportierte Material S. 8

IV. Die Bedeutung des axonalen Stoffwechsels S. 10

V. Der Einfluß der Temperatur S. 10

VI. Die Bedeutung des axonalen Ionenmilieus S. 11

VII. Die Rolle der Mikrotubuli und der Neurofilamente S. 14

VIII. Modellvorstellungen zum Mechanismus des axonalen Transportes S. 17

C Material und Methoden S. 20

I. Untersuchungsobjekt S. 20

II. Injektionstechnik S. 20

III. Operation S. 21

IV. Entnahme S. 23

V. Szintillationsmessung S. 23

VI. Herstellung von Semidünnschnitten für Lichtmikroskopie S. 25

D Ergebnisse S. 27

I. Vorbemerkungen zur Darstellung S. 27

II. Der ungestörte schnelle axonale Transport S. 30

1. Verteilung der Aktivität nach 1, 2 und 4 Stunden S. 30

2. Die nicht-axonal transportierte Aktivität S. 36

3. Die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transportes S. 41

III. Der gestörte schnelle axonale Transport S. 42

1. Der Einfluß von Cycloheximid S. 42

2. Der Einfluß der Entfernung der Perikarya der retinalen Ganglienzellen S. 44

E Diskussion S. 53

I. Die Radioaktivitätsverteilung S. 53

II. Die Transportgeschwindigkeit S. 58

III. Der Einfluß von Cycloheximid S. 60

IV. Der Einfluß der Perikaryonentfernung S. 63

F Zusammenfassung S. 67

G Literaturverzeichnis S. 69

A Einleitung

Nervenzellen haben zur Versorgung ihrer verhältnismäßig großen Oberfläche und ihrer langen Fortsätze besondere Leistungen zu vollbringen. Ihre Morphologie zwingt die Zelle zu einem ständigen vom Perikaryon ausgehenden Stofftransport.

Um die Abhängigkeit des Axons von einer intakten Verbindung mit dem Perikaryon zu erklären, hatte schon 1928 Ramón y CAJAL den Gedanken geäußert, das Perikaryon könne eine trophische Substanz produzieren, die für den Unterhalt sowohl des Axons als auch des innervierten Endorgans notwendig sei (zitiert bei LASEK, 1970). Doch erst WEISS und HISCOE (1948) konnten mit Einschnürungsversuchen am peripheren Nerven den dynamischen Prozeß im Axon aufdecken. Sie entwickelten das Konzept des "axonalen Transportes": Neuroplasma fließt mit einer Geschwindigkeit von 1-3 mm/Tag ständig vom Perikaryon in Richtung Synapse.

Weitere Forschung in den sechziger Jahren konnte einen wesentlich schnelleren Materialtransfer vom Perikaryon zur Synapse feststellen (MIANI, 1963; 1964; LUBINSKA, 1964). Er wurde als schneller axonaler Transport ("fast transport" oder "rapid transport") der von WEISS und HISCOE entdeckten langsamen Bewegung des Grundcytoplasmas ("axonal flow") gegenübergestellt.

Vor allem der schnelle axonale Transport wurde Gegenstand eingehender Untersuchungen (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968, ELAM und AGRANOFF, 1971, OCHS, 1974a, b; JEFFREY und AUSTIN, 1973, LUBINSKA, 1975). Eine Flut von Literatur wurde vor allem durch die Anwendung der Tracertechnik ausgelöst.

Diese Methode wurde in der vorliegenden Arbeit am N. opticus der Ratte angewandt. Das optische System ist für Versuche dieser Art besonders geeignet. Der Tracer kann ohne große Eingriffe durch direkte Injektion in die unmittelbare Umgebung der Perikarya der Ganglienzellschicht herangebracht werden. So kann mit kleinen Dosen eine relativ hohe Markierung erreicht werden.

Unter den Versuchstieren, deren optisches System für Untersuchungen zum schnellen axonalen Transport gedient hatte, fällt auf, daß Ratten deutlich weniger vertreten waren. Im Vergleich mit bisherigen Versuchen, die vielfach an poikilothermen Tieren ausgeführt wurden, können von der Ratte als Säugetier eher Analogieschlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen gezogen werden. Außerdem ist die Ratte als vielverwendetes Labortier anderen Säugern, z.B. Hasen und Affen, schon wegen der leichteren Verfügbarkeit vorzuziehen.

In der hier aufgeführten Untersuchung wurden die Transportparameter des schnellen axonalen Transports im Sehnerven der Ratte bestimmt. Es gibt bisher zwei Studien zu dieser Frage (SJÖSTRAND und HANSSON, 1972; SCHLICHTER und McCLURE, 1974). Aus bisher bekannt gewordenen Ergebnissen (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968; OCHS und JOHNSON, 1969) wurde die Unabhängigkeit des schnellen axonalen Transports von perikaryalen Prozessen gefordert. Die transportierten Proteinkörper werden nahezu ausschließlich im Perikaryon synthetisiert. In der eigenen Untersuchung wurde der Einfluß eines Proteinsynthesehemmers (Cycloheximid) auf die Parameter des schnellen Transports und der Einfluß einer Entfernung der Perikarya ermittelt.

B Der schnelle axonale Transport

I. Die Rolle des Perikaryons

Um seine Aufgabe als metabolisches Zentrum der Nervenzelle zu erfüllen, muß das Perikaryon laufend Stoffe aufnehmen, sie verarbeiten und die Produkte in seine Fortsätze exportieren. Unter physiologischen Bedingungen werden die dazu notwendigen Stoffe dem Blut entnommen. Unter Versuchsbedingungen werden den Perikarya markierte Substanzen angeboten. Es tritt eine sehr schnelle Aufnahme ein (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968; SJÖSTRAND und KARLSSON, 1969; KARLSSON und SJÖSTRAND, 1971; GROSS und BEIDLER, 1973).

Hauptsächlich werden im Axon Proteine transportiert. Die Proteinsynthese erfolgt selektiv und schnell. Wenn man eine Aminosäure wie Cycloleucin, die normalerweise nicht in Nervenproteinen gefunden wird, in die Ganglien injiziert, wird sie nicht inkorporiert und nicht transportiert (OCHS, 1974a).
Wird ein Proteinsynthesehemmer (Puromycin, Cycloheximid) vor der Applikation einer markierten Aminosäure injiziert, so kann keine Inkorporation und kein Transport beobachtet werden (OCHS et al., 1970). Bei umgekehrter Versuchsanordnung, wenn also die Proteinsynthesehemmung erst nach der Aminosäuregabe erfolgte, konnte nachgewiesen werden, daß die Proteinsynthesehemmer nicht direkt mit dem schnellen axonalen Transport interferieren (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968; SJÖSTRAND und KARLSSON, 1969; OCHS und JOHNSON, 1969).
Wird das Axon vom perikaryalen Nachschub abgetrennt (Ligatur, Durchtrennung, Kälteblock oder metabolischer Block durch Anoxie), so geht der Transport für eine begrenzte Zeit weiter (OCHS und RANISH, 1969). Das ist ein Beweis dafür, daß der Mechanis-

mus des schnellen axonalen Transports unabhängig vom Perikaryon funktioniert, vorausgesetzt, im distalen "abgetrennten" Teil ist ein ausreichendes Nährstoff- und Sauerstoffangebot gewährleistet.

Ein Teil des synthetisierten Materials wird nicht direkt in das Transportsystem eingebracht, sondern in einem Kompartiment gespeichert (OCHS, 1969; 1972b). Daraus kann es kurzfristig wieder mobilisiert werden.
Sowohl das direkt aus der Proteinsynthese stammende als auch das aus dem Kompartiment stammende Material wird in dem von OCHS postulierten "gate" einem Auslesemechanismus unterzogen. Vom Golgi-Apparat wird angenommen, daß er das morphologische Äquivalent dieser "Pforte" darstellt, indem er den Export von Material ins Axon kontrolliert (OCHS, 1974a, b).

Über das Beladen des Transportsystems und den Ausschleusevorgang ist noch wenig bekannt. Kalziumionen sollen bei diesen Vorgängen eine zentrale Rolle spielen. Eine kalziumfreie Inkubation nur der Perikarya führte zu einer merklichen Reduktion des transportierten Materials, ohne die vorangehende Synthese der zu transportierenden Proteine zu beeinflussen oder den Gehalt an energiereichen Phosphaten zu ändern (DRAVID und HAMMERSCHLAG, 1975; HAMMERSCHLAG et al., 1975). Ergebnisse aus Untersuchungen mit zweiwertigen Kationen zeigen, daß der Hauptangriffspunkt dieser Ionen im Perikaryon liegt; sie wirken vermutlich auf Vorgänge zwischen Proteinsynthese und Transport ein. An der Kalziumbindungsstelle im Perikaryon können die Schwermetallionen Kobalt und Mangan das Kalzium kompetitiv verdrängen. In kalziumfreier Lösung kann Strontium das Kalzium teilweise er-

setzen (HAMMERSCHLAG et al., 1976; HAMMERSCHLAG et al., 1977).

II. Die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transportes

Seit den Ligaturexperimenten von WEISS und HISCOE (1948) ist bekannt, daß sich das axonale Plasma mit einer Geschwindigkeit von 1-2 mm/d synapsenwärts bewegt. Nach Entdeckung des schnellen axonalen Transports ist eine große Zahl verschiedener Transportraten ermittelt worden (die meisten Autoren verwenden den Ausdruck "Rate" um die "Geschwindigkeit" zu bezeichnen). Die Variationsbreite reicht von 40 mm/d (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968) bis zu 400-500 mm/d (OCHS, 1972a, b) (über temperaturbedingte Geschwindigkeitsunterschiede s.S. 11). In neurosekretorischen Fasern des Hypothalamus wurde von einem superschnellen Transport mit Geschwindigkeiten über 2000 mm/d berichtet (JASINSKI et al., 1966). Gewisse Differenzen bei den Geschwindigkeiten können in der Wahl des Untersuchungsobjektes (Spezies, Fasersystem) und der Methodik liegen, doch können größere Unterschiede hiermit nicht mehr hinreichend erklärt werden. Als Beispiel für die unterschiedlichen Transportgeschwindigkeiten kann das optische System verschiedener Spezies dienen. Untersuchungen wurden an Fischen, Vögeln und Säugetieren vorgenommen.

Für den Goldfisch wurden Werte von 40 mm/d - 100 mm/d angegeben (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968; ELAM und AGRANOFF, 1971). WOLBURG (1979) berichtete von mindestens 90 mm/d. Für Karauschen und Rotfedern wurde ein Wert von 30-50 mm/d bestimmt (RAHMANN und WOLBURG, 1971; WOLBURG, 1972).

Unter den Vögeln wurden Tauben und Hühnchen zu Untersuchungszwecken herangezogen. Im Opticus der Taube konnten Geschwindigkeiten von 100-200 mm/d und 400 mm/d ermittelt werden

(CUENOD und SCHONBACH, 1971). Für die optischen Fasern des Hühnchens wurde sie mit 120-170 mm/d angegeben (MARCHISIO und GREMO, 1971; BONDY, 1972).
Im Mäuseopticus bestimmten GRAFSTEIN et al (1972) eine Geschwindigkeit bis 190 mm/d. Bei der Ratte haben SJÖSTRAND und HANSSON (1971) 120-140 mm/d gemessen. Nach Angaben von SCHLICHTER und McCLURE (1974) beträgt dieser Wert 202 mm/d.
Vor allem von KARLSSON und SJÖSTRAND wurde das visuelle System des Kaninchens für axoplasmatische Transportstudien verwendet (1968). Sie ermittelten eine Transportrate von 110-150 mm/d. Demgegenüber wurden von anderen Autoren Werte um 240 mm/d angegeben (HENDRICKSON und COWAN, 1971; FINK und KENNEDY, 1972). Nach Angaben von CHOU soll die schnelle Komponente des axonalen Transportes bei Affen 100 mm/d betragen (1970).
Die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transportes vergrössert sich während der Ontogenese. Dies konnten SJÖSTRAND et al. (1973) im Sehnerven des Hühnchens nachweisen.

Intermediäre Geschwindigkeiten, die zwischen der langsamen und der schnellen liegen, konnten im optischen System des Kaninchens festgestellt werden. KARLSSON und SJÖSTRAND (1971) konnten vier verschiedene Geschwindigkeiten unterscheiden. Inzwischen wurde für den Kaninchenopticus noch eine fünfte Geschwindigkeit ermittelt (LORENZ und WILLARD, 1976).
FRIZELL und SJÖSTRAND (1976) bestimmten für den N. vagus des Kaninchens eine Transportrate von 25 mm/d. Da keine langsamere Geschwindigkeit in diesem Nerv festgestellt werden konnte, wurde sie von den Autoren als langsame Transportrate bezeichnet.

Nach Ansicht von BRADLEY et al. (1971) treten im Axon nicht nur festgelegte, voneinander differente Geschwindigkeiten (langsam/

schnell) auf, sondern es existiert ein kontinuierliches Spektrum verschiedener Transportraten. Im Gegensatz hierzu vertritt OCHS die Meinung, daß es für eine Vielzahl von Säugetieren nur eine einzige typische Transportrate gibt. Er konnte für eine Reihe von Säugetieren annähernd dieselben Transportgeschwindigkeiten von 410 $\pm$ 50 mm/d nachweisen (OCHS, 1972a, b).

Durch autoradiographische Nachweise wurde gezeigt, daß trotz Schwankungen des individuellen Axondurchmessers die Transportgeschwindigkeit in allen Fasern gleich groß ist (OCHS, 1971a, 1972b).
Das Wissen über den Mechanismus des axonalen Transportes basiert zu einem großen Teil auf Untersuchungen von Pharmakawirkungen (z.B. Beeinflussung des lokalen Energiestoffwechsels, Wirkung von Colchizin auf die Mikrotubuli). Entscheidend dabei ist die Konzentration der jeweiligen Droge. Vorwiegend wird eine Verlangsamung oder ein Stop des axonalen Transports erreicht (ANDERSON und EDSTRÖM, 1973; EDSTRÖM und HANSON, 1975; EDSTRÖM et al., 1973; HANSON und EDSTRÖM, 1977).

Inzwischen sind aber auch Stoffe bekannt, die die Geschwindigkeit des axonalen Transports erhöhen (BOEGMAN et al., 1975). Diese Erhöhung der Transportgeschwindigkeit konnte durch Pharmaka erreicht werden, die den Spiegel der Monoamine in der Nervenzelle steigern. Hingegen wird durch Entleerung der Monoaminspeicher eine Verminderung der Transportgeschwindigkeit erzielt. Dies könnte als Hinweis auf einen Kontrollmechanismus des schnellen axonalen Transports gewertet werden (BOEGMAN und WOOD, 1976).
Unterernährung kann die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transports nicht beeinflussen. KENNEDY (1974) konnte dies an

Kaninchen nachweisen.

III. Das transportierte Material

Die verbreitetste Technik das Transportgut zu untersuchen, besteht darin, das Nervengewebe radioaktiv zu markieren, zu homogenisieren und schließlich einer subcellulären Fraktionierung zu unterwerfen. Hierbei werden Makromoleküle von den Organellen getrennt (OCHS, 1968; SJÖSTRAND und KARLSSON, 1969; OCHS et al., 1970; CUENOD und SCHONBACH, 1971; SABRI und OCHS, 1972; KRYGIER-BRÉVART et al., 1974; SIEGEL und McCLURE, 1973; KARLSSON, 1976; GROSS und WEISS, 1977). Es stellte sich heraus, daß der schnelle axonale Transport vorwiegend partikuläres Material transportiert (im Gegensatz zum langsamen Transport, bei dem der lösliche Teil weit überwiegt) (GROSS und WEISS, 1977; WEISS et al., 1978). Die leichteren partikulären Fraktionen haben eine höhere spezifische Radioaktivität (CANCALON und BEIDLER, 1977).

Der überwiegende Anteil des schnell transportierten Materials besteht aus Proteinen. Ferner werden noch Glykoproteine, Glykolipide, Phospholipide und Cholesterin transportiert. Der Nachweis konnte durch die Markierung der jeweiligen Vorstufe erbracht werden (GRAFSTEIN, 1975). Der schnelle Transport niedermolekularer Substanzen konnte für Nucleoside (RAHMANN und WOLBURG, 1971; KRUGER und SAPORTA, 1977) und für Aminozucker (FORMAN et al., 1971) nachgewiesen werden. Umstritten ist die Existenz eines schnellen Transports von Aminosäuren (ELAM und AGRANOFF, 1971; BONDY, 1971; OCHS et al., 1970; KARLSSON, 1977; CSANYI et al., 1973). Nach Glutaraldehydfixierung kamen GROSS und KREUTZBERG (1978) zu einem positiven Ergebnis.

Weiterhin werden Transmitter und die an ihrem Stoffwechsel beteiligten Enzyme befördert (z.B. Acetylcholinesterase, Dopamin-ß-Hydroxylase) (TUČEK, 1974, 1975). Sie werden zum Teil in Vesikeln transportiert. Nach Meinung BRIMIJOINS müssen für die Dopamin-ß-Hydroxylase zwei intraneurale Kompartimente angenommen werden. Das Enzym soll einmal membrangebunden in Vesikeln und einmal ungebunden transportiert werden (BRIMIJOIN, 1976).
Ein Teil der Mitochondrien soll ebenfalls schnell transportiert werden (GRAFSTEIN, 1975; HESLOP, 1975). Doch scheinen sie, wie andere in derselben Größenordnung liegende Partikel, saltatorische Bewegungen auszuführen, sowohl in ortho- als auch in retrograder Richtung. Da der Durchmesser dieser Partikel im Bereich um 1 µm liegt, ist ihre Bewegung der optischen Beobachtung am lebenden Gewebe, z.B. im Interferenzkontrast mit Zeitrafferaufnahmen, zugänglich (LEESTMA, 1976).
Obwohl Membranen des endoplasmatischen Retikulums im Zusammenhang mit dem schnellen axonalen Transport markiert wurden (DROZ et al., 1973), ist noch nicht klar, ob sich dieses System selbst schnell bewegt, oder ein Materialtransport in ihm erfolgt (GRAFSTEIN, 1975).

GROSS und BEIDLER (1975) zeigten für den N. olfactorius von Lepisosteus osseus (Knochenhecht, garfish), daß nur 20% des markierten Materials in die Synapsenregion eintreten. Es tritt also eine Bindung bzw. ein Einbau von Material im Axon auf. In einer in-vitro Versuchsanordnung konnten HINES und GARWOOD (1977) eine Freisetzung markierten axonalen Materials, das schnell transportiert wurde, ins Inkubationsmedium nachweisen.
DROZ et al. (1978) konnten einen Axon-Myelin-Transfer von Phospholipid-Komponenten mittels Autoradiographie nachweisen.

Hierfür werden zwei mögliche Mechanismen diskutiert: Zum einen ein direkter Transfer der Phospholipide vom Axon zum Myelin, und zum anderen eine axonale Freisetzung der niedermolekularen Vorstufen, die dann in der Schwann'schen Zelle in Phospholipide eingebaut werden. Die Schmitt-Lantermann'schen Einkerbungen sollen als Kanäle durch das Myelin dienen und den Transfer damit erleichtern (DROZ, 1979).
Ein transneuronaler Transport ist für Adenosin- und Uridin-Derivate bekannt (SCHUBERT und KREUTZBERG, 1974; HUNT und KÜNZLE, 1976; WOLBURG, 1972; 1979).

IV. Die Bedeutung des axonalen Energiestoffwechsels

Der axonale Transport ist abhängig vom oxidativen Metabolismus im Axon. Unter asphyktischen Bedingungen kommt der Transport schnell zum Erliegen. Hemmstoffe der Atmungskettenenzyme (Cyanid) induzieren ebenso einen Stop wie Entkoppler der oxidativen Phosphorylierung z.B. Dinitrophenol (OCHS und HOLLINGSWORTH, 1971; OCHS, 1971b).
Der Stillstand des Transportes ist eine Folge des starken Rückgangs energiereicher Phosphate. Diese müssen entlang des gesamten Axons zur Verfügung stehen. Lokale Anoxie kann an jeder beliebigen Stelle des Axons einen Stop verursachen (OCHS und HOLLINGSWORTH, 1971).

V. Der Einfluß der Temperatur

Der axonale Transport ist temperaturabhängig (EDSTRÖM und HANSON, 1973; GROSS, 1973; OCHS und SMITH, 1975). GROSS und BEIDLER stellten für zwei Fische (Lepisosteus osseus und Esox lucius) eine Gleichung für die Geschwindigkeit des axonalen Transports im N. olfactorius auf, die als wesentlichen Parameter die Temperatur enthält. In einer vorausgegangenen Studie konnte

von GROSS (1973) die lineare Abhängigkeit der Geschwindigkeit von der Temperatur nachgewiesen werden. Durch lineare Extrapolation einer Geschwindigkeits-Temperatur-Geraden konnte ein Wert für die Geschwindigkeit im N. olfactorius von Lepisosteus osseus (Knochenhecht) bei 37°C ermittelt werden, der dem von OCHS im N. ischiadicus der Katze bestimmten Wert sehr nahe kommt. Man könnte dies als Beweis für die Existenz einer gleichen Temperatur-Geschwindigkeits-Funktion, wie sie OCHS fordert, auffassen (GROSS und BEIDLER, 1975).

Bei anderen Tieren wurde allerdings eine nicht-lineare Abhängigkeit der Geschwindigkeit von der Temperatur nachgewiesen (EDSTRÖM und HANSON, 1973; TAKENAKA et al., 1978).

Der Temperatureinfluß auf den Transport ist so groß, daß unbedingt alle Transportgeschwindigkeiten, die ermittelt werden, zusätzlich eine Temperaturangabe benötigen, um Vergleiche ziehen zu können. Dies gilt besonders für poikilotherme Versuchstiere und für in vitro Versuche.

Bei wechselwarmen Tieren kommt der Transport bei 5°C zum Erliegen (GROSS, 1973), während er bei Säugern bei 11°C zum Stillstand kommt (OCHS und SMITH, 1975).

Diese Beobachtungen führten zu einer neuen Untersuchungsmethode des axonalen Transportes. Bei der "stop-flow-Technik" wird ein kurzer Abschnitt des Nerven bei tiefen Temperaturen gehalten, so daß kein Transport an dieser Stelle stattfindet. Das Transportgut sammelt sich davor an. Durch schnelle Erwärmung wird die durch Kälte verursachte Unterbrechung des Transportes aufgehoben. Der Kälteblock wirkt wie eine Ligatur, aber ohne traumatischen Reiz (BRIMIJOIN, 1975).

VI. Die Bedeutung des axonalen Ionenmilieus

Gemäß der Ochs'schen Hypothese (Transportfilamenttheorie), die

analog der Gleitfilament-Theorie des Muskels entwickelt wurde, muß eine Mg^{2+}-Ca^{2+}-abhängige ATPase im Axon vorhanden sein. KHAN und OCHS (1974) konnten deren Existenz nachweisen. Daraus läßt sich eine Abhängigkeit des Transports von Kalzium- und Magnesiumionen ableiten. In kalziumarmen Lösungen müßte deshalb der Transport zum Erliegen kommen. Doch bis zur Untersuchung von OCHS et al. (1977) konnte kein Effekt einer kalziumfreien Inkubation festgestellt werden. Erst OCHS et al. konnten den klaren Beweis einer Teilnahme des Kalziums am Mechanismus des schnellen axonalen Transports liefern. Dies liegt daran, daß bei der Untersuchung der Kalziumeinflüsse auf den axonalen Transport grundsätzlich zwei verschiedene Präparationstechniken unterschieden werden müssen: Einmal eine Untersuchung am Nerven mit Perineurium und einmal ohne.

OCHS et al. (1977) entfernten von ihren Versuchsobjekten (N. ischiadicus der Katze) das Perineurium. Danach konnte ein Stop des axonalen Transportes in kalziumfreien Medien nachgewiesen werden. Eine Erhöhung der Konzentration über das physiologische Maß hinaus konnte erst bei sehr hohen Konzentrationen eine Störung des Transportes bewirken.

Die vorausgegangenen Untersuchungen, die keinen Einfluß von Kalzium auf den schnellen axonalen Transport feststellen konnten, wurden an Nerven mit Perineurium ausgeführt (EDSTRÖM, 1974; HAMMERSCHLAG et al., 1975). Das Perineurium muß demnach als Permeabilitätsbarriere gelten, indem es die Ionen im Endoneuralraum zurückhält (OCHS et al., 1977).

Kalzium selbst wird auch transportiert, und zwar mit gleicher Geschwindigkeit wie die Proteine (HAMMERSCHLAG et al., 1975).

Inzwischen konnte ein kalziumbindendes Protein nachgewiesen werden, das ebenfalls schnell transportiert wird (IQBAL und

OCHS, 1978). Dies wirft natürlich die Frage nach der funktionellen Rolle dieses kalziumbindenden Proteins auf. Nach der Vorstellung von IQBAL und OCHS (1978) könnte es den lokalen Kalziumspiegel im Nerven regulieren helfen, um somit den Transport über die kalziumabhängige ATPase zu kontrollieren.

Inkubation der Axone in K^+- oder Na^+-freier Ringerlösung beeinflussen den schnellen axonalen Transport nicht (EDSTRÖM, 1975; OCHS, 1972b; OCHS und WORTH, 1975). Depolarisation mit hoher Kaliumkonzentration stört den axonalen Transport ebenfalls nicht (OCHS, 1972b; ANDERSON und EDSTRÖM, 1973; EDSTRÖM 1975; OCHS und WORTH, 1975). Bei sehr hohen Kaliumwerten konnte EDSTRÖM (1975) allerdings eine geringe Hemmung nachweisen.

Pharmaka, welche die Permeabilität von Natrium- und Kaliumionen beeinflussen und somit die Erregbarkeit des Nerven blockieren (Tetrodotoxin, Prokain), bewirken keine Änderung des axonalen Transportes (OCHS und HOLLINGSWORTH, 1971). Eine erregbare Membran ist demnach keine notwendige Voraussetzung für den axonalen Transport. Allerdings sind auch Arbeiten veröffentlicht worden, in denen von einer Beeinflussung des axonalen Transports durch Lokalanästhetica, welche ihre Wirkung über eine Permeabilitätsverminderung für Natrium- und Kaliumionen an der Membran entfalten, berichtet worden (EDSTRÖM et al., 1973). Wird umgekehrt ein Stop des axonalen Transports (z.B. durch Colchizin) induziert, ergibt sich keine Änderung der Erregungsleitung (FINK et al., 1973). Bei hoher Colchizinkonzentration kann man jedoch auch eine Reduktion der Amplitude des Summenaktionspotentials beobachten (JACKSON und DIAMOND, 1977).

Ouabain kann den schnellen axonalen Transport hemmen (ANDERSON und EDSTRÖM, 1973; GARCIA et al., 1974; WOLBURG, 1976). Es ist bekannt, daß mit Ouabain eine Depolarisation durch Hemmung der Membran-Na^+-K^+-ATPase erreicht wird. WOLBURG (1979) stellte fest, daß die Ouabaindosis, die notwendig ist, den schnellen Transport zu hemmen, bei axonaler Applikation außerordentlich hoch ist. Sie ist um den Faktor 200 höher als jene Dosis, die die Na^+-K^+-ATPase am Axolemm zu 100% hemmt (AKERA et al., 1973). Die Transporthemmung kann also nicht allein mit der Wirkung auf dieses Enzym erklärt werden. Es werden z.B. membrantoxische Effekte vermutet (WOLBURG, 1979).

VII. Die Rolle der Mikrotubuli und der Neurofilamente

Den Mikrotubuli wird bei der Mehrzahl der Modellvorstellungen des schnellen axonalen Transports eine zentrale Rolle zugeschrieben. Wichtige Beweise ergeben sich aus der Anwendung von Mitosehemmern wie Colchizin und Vinblastin. Nach Applikation dieser Pflanzenalkaloide zeigt sich ein Transportstop (HESLOP, 1975; EDSTRÖM und MATTSSON, 1972; PAULSON und McCLURE, 1974; PRICE, 1974; HANSON und EDSTRÖM, 1977).

Die Mikrotubuli müssen als Polymerisationsprodukte aus ihren Untereinheiten aufgefaßt werden. Diese Untereinheiten sind Proteindimere, die aus zwei geringfügig verschiedenen Tubulinen (α-und ß-Tubulin) bestehen. Zwischen diesen Dimeren und den Mikrotubuli besteht ein dynamisches Gleichgewicht (assembly $\rightleftharpoons$ disassembly).

Colchizin bindet sich an Tubulin, dadurch ändert sich dessen Konformation derart, daß es nicht mehr zu Mikrotubuli polymerisiert

werden kann. Das Gleichgewicht verschiebt sich zugunsten der freien Dimere, so daß die Mikrotubuli aufgelöst werden (WUNDERLICH, 1977; BARDELE, 1978). Wird Colchizin lokal am Axon appliziert, verursacht es einen Stop ähnlich einer Ligatur (KREUTZBERG, 1969).

Vinblastin induziert die Bildung von Parakristallen. Diese Vinblastin-Tubulin-Kristalle verursachen durch Zerstörung der Mikrotubulistruktur einen Transportstop (PAULSON und McCLURE, 1974). Von schwerem Wasser (D_2O) ist bekannt, daß es das Gleichgewicht in Richtung Mikrotubuli verschiebt. Es entstehen "überstabilisierte", inaktive Mikrotubuli, an denen kein Transport mehr stattfindet (HANSON und EDSTRÖM, 1977; BARDELE, 1978).

Weitere Argumente für die Bedeutung der Mikrotubuli beim axonalen Transport sind aus morphologischen Beobachtungen bekannt. SMITH (1971) konnte elektronenmikroskopisch im Spinalnerven von Neunaugen (Petromyzon marinus) Brücken zwischen Vesikeln und Mikrotubuli nachweisen. Allerdings blieb dies die einzige Arbeit, die eine solche Verbindung im Axon aufzeigen konnte.

Für den Ciliaten Paramecium konnte ein konstanter Abstand zwischen Vesikeln und Mikrotubuli gezeigt werden, der sich auch nach Störung des geradlinigen Verlaufs der Mikrotubuli nicht ändert (ALLEN, 1975). Dies kann als weitere Stütze für die These gewertet werden, daß Mikrotubuli sich an der Bewegung membrangebundener Partikel beteiligen. SAMSON (1971) konnte mit besonderer Kontrastierung morphologisch ein gewebeähnliches Netzwerk nachweisen, das die Mikrotubuli umgibt. Es besteht aus sauren Mucopolysacchariden.

Inzwischen wurden jedoch auch Arbeiten veröffentlicht, die Zweifel an der den Mikrotubuli zugeschriebenen Rolle beim axonalen Transport anmelden. BYERS (1974) konnte trotz beträchtlichem

Mikrotubuliverlust - infolge Colchizineinwirkung - eine normale Transportgeschwindigkeit nachweisen. Sie konnte mit autoradiographischen Methoden eine Beziehung zwischen der Markierung und dem glatten endoplasmatischen Retikulum aufzeigen. Auch von anderen Autoren wurde auf die Bedeutung des glatten endoplasmatischen Retikulums hingewiesen (HENDRIKSON, 1972; DROZ et al., 1973; DROZ, 1973).
DROZ et al. (1975) zeigten, daß sich die Cisternen des glatten endoplasmatischen Retikulums in der ganzen Länge des Axons vom Perikaryon bis zu den Axonendigungen erstrecken. In der präterminalen Region anastomosieren die Cisternen, sie bilden hier ein primäres Netzwerk. Von ihnen entspringen dünnere Cisternen, die ein sekundäres Netzwerk bilden. An der Spitze der dünnen Cisternen können synaptische Vesikel beobachtet werden. Die Autoren schlagen das glatte endoplasmatische Retikulum als Transportsystem für Makromoleküle vor, die für Axonmembranen und synaptische Vesikel benötigt werden (DROZ et al., 1975).

Im Axoplasma kommen außer den beiden Tubulinen noch andere fibrilläre Proteine vor, wie Filarin, Aktin, Neurostenin (DAVISON, 1975; BERL et al., 1973). Das Filarin ist die Untereinheit der Neurofilamente. Dies sind Strukturen, die sich nicht kontinuierlich durchs Axon erstrecken. Sie werden von HOFFMAN und LASEK (1975) mit dem langsamen Transport in Verbindung gebracht. Beim schnellen axonalen Transport soll ihnen aber keine entscheidende Rolle zukommen (JEFFREY und AUSTIN, 1973). Dies zeigen auch Versuche von SAMSON (1971). Er konnte sowohl eine langsame als auch eine schnelle Transportgeschwindigkeit im Bauchmark des Flußkrebses nachweisen, obwohl in den Axonen keine Neurofilamente gefunden werden konnten.
Neurostenin ist ein Proteinsystem, das dem Aktomyosin des Mus-

kels sehr ähnelt (PUSZKIN et al., 1972). Da es sehr stark in Synaptosomen vertreten ist, schreibt man ihm eher eine Rolle in der Transmitterfreisetzung zu (BERL et al., 1973).

VIII. Modellvorstellungen zum Mechanismus des axonalen Transports

SCHMITT entwarf ein Modell, das auf einer direkte Interaktion zwischen Vesikeln und Mikrotubuli beruht . Das gesamte Transportgut soll sich in Vesikeln befinden. Durch bestimmte wandständige Proteine wird eine Bindung an die Mikrotubuli erreicht. Als Energiequelle dient ATP, welches von den Mikrotubuli zur Verfügung gestellt wird. Wird nun das ATP hydrolisiert, entstehen Konformationsänderungen an der Bindung, welche einen Stoß verursachen. Dieser Stoß zieht eine Bewegung des Bläschens nach sich. Tritt nun das Bläschen erneut mit den Mikrotubuli in Kontakt, wiederholt sich der Vorgang, so daß eine gerichtete Bewegung zustande kommt (SCHMITT, 1968).

SAMSON schlug ebenfalls ein mechanochemisches Modell vor. Die Mikrotubuli fungieren hier als Ankerpunkte eines Netzes von vielfach geladenen und verzweigten Makromolekülen. Durch Zunahme der Zahl der geladenen Gruppen dehnen sich diese "Makroionen" aus, durch Abnahme kontrahieren sie sich. Das Transportgut ist an die Makromoleküle angelagert. Eine Folge von Anheftungs-, Kontraktions-, Expansions- und Ablösungsprozessen verursacht die Bewegung. Hierbei wird Energie verbraucht (SAMSON, 1971).

OCHS (1971) entwickelte eine Hypothese (transport-filament-theory) mit einheitlicher Transportgeschwindigkeit. Sie basiert auf der Beobachtung, daß in einer Anzahl verschiedener Säugetierspezies die gleiche Transportgeschwindigkeit festgestellt werden konnte

(OCHS, 1972b).
Die Transport-Filament-Hypothese, die sich an die "sliding-filament-theory" des quergestreiften Msskels anlehnt, unterscheidet mobile und stationäre Elemente. Die stationären Anteile werden von den Mikrotubuli und den Neurofilamenten repräsentiert. Durch Querbrücken sind sie mit dem beweglichen Anteil, den Transportfilamenten, verbunden. Das Transportmaterial ist an die Transportfilamente gebunden, sie erfüllen eine Carrier-Funktion. Unter Energieverbrauch wird mit Hilfe der Querbrücken eine gerichtete Bewegung entlang der Mikrotubuli und Neurofilamente erreicht. Die Energie wird in Form von energiereichen Phosphaten aus dem lokalen Axonstoffwechsel zur Verfügung gestellt (OCHS, 1971a, 1972b, 1974a).
Mit dieser Theorie kann trotz der Heterogenität des Transportgutes erklärt werden, daß für so verschiedenes Material wie lösliche Proteine, Polypeptide und partikuläre Strukturen, dieselbe Transportgeschwindigkeit auftritt (SABRI und OCHS, 1973; KIDWAY und OCHS, 1969).

Ein etwas spekulativeres Modell wurde von KERKUT (1975) vorgeschlagen. Als stationäre Phase dienen hier Aktin-ähnliche Filamente, die entlang der Mikrotubuli in Längsrichtung verspannt sind. Zusätzliche Stabilität gewinnen sie durch Anheftung an das endoplasmatische Retikulum oder an die Innenseite des Axolemms. Die mobile Phase wird durch im Perikaryon produzierte Myosin-ähnliche Filamente vertreten. Diese Myosin-Filamente ziehen sich an den Aktin-Filamenten entlang.
Je nach Zahl der hintereinander geschalteten Myosin-Filamente, d.h. je nach Zahl der Interaktionsstellen des Myosins mit dem Aktin, resultieren verschiedene Geschwindigkeiten. Das zu transportierende Material ist in Vesikeln verpackt. Sie sind mit einer

Proteinhülle umgeben, die gemäß dem Inhalt codiert ist. Somit kann die Zelle jederzeit Information über den Inhalt der Vesikel gewinnen, ohne sie öffnen zu müssen. Die Anheftung der Vesikel an die Myosin-Carrier ist ähnlich der Antigen-Antikörper-Reaktion (KERKUT, 1975).

Ein Modell, das auf chromatographische Überlegungen aufbaut, wurde von GROSS (1975) vorgeschlagen (microstream concept). Nach seinen Vorstellungen enthält das Axon Regionen höherer und niederer Viskosität.
Die Mikrotubuli sind von Regionen niedriger Viskosität umgeben, in ihnen erfolgt der schnelle axonale Transport (genannt "microstream").
Ein hypothetischer krafterzeugender Mechanismus ist an den Mikrotubuli lokalisiert, er erzeugt eine Schubkraft an das angrenzende Plasma. Sie fällt mit Entfernung von den Mikrotubuli ab, proportional zu ihr fällt die Geschwindigkeit ab. Damit können verschiedene, gleichzeitig vorkommende Geschwindigkeiten erklärt werden. Die Schubkraft wird an der Mikrotubulioberfläche durch eine vektorielle ATPase-Reaktion erzeugt. Die richtungsgebenden Eigenschaften ergeben sich aus der Anordnung des Enzyms an den Mikrotubuli und aus der gerichteten Freisetzung der elektrostatischen Rückstoßenergie, die in der ATP-Seitenkette gespeichert ist.
In diesem Modell wird Material nicht wie in den anderen Modellen durch eine stationäre Phase hindurchtransportiert. Das wäre energetisch ungünstig (GROSS, 1975; KREUTZBERG und SCHUBERT, 1975).

C Material und Methoden

I. Untersuchungsobjekt

Die Untersuchungen wurden am rechten N. opticus von 123 Ratten des Wistar-Stammes vorgenommen. Sie stammten aus dem Pharmakologischen und Pathologischen Institut der Universität Tübingen. Es wurden Tiere beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 250 - 350 g ausgewählt. Der linke N. opticus diente jeweils als Kontrolle.

II. Injektionstechnik

In den rechten Bulbus wurde radioaktives ^{3}H-Leucin injiziert. Die Injektion wurde in leichter Äthernarkose vorgenommen. Wie sich bei Vorversuchen herausgestellt hatte, empfahl es sich, vor der eigentlichen Applikation des Tracers das Volumen des Bulbusinhaltes zu vermindern, um eine gute Verteilung des Tracers in der Nachbarschaft der Netzhaut zu gewährleisten. Deshalb wurde eine Entlastungspunktion an der Cornea nahe dem Limbus vorgenommen, dabei floß etwas Kammerwasser ab. Daraufhin wurde der Tracer durch eine langsame Injektion mit einer Mikroliterspritze (Glenco, Houston/Texas) im Bereich der Ora serrata in die Glaskörperflüssigkeit eingebracht.

Da die Glaskörperflüssigkeit bei der Ratte sehr wenig Raum einnimmt, wurde die Injektion bei Sichtkontrolle unter dem Stereomikroskop durchgeführt, um eine Injektion in die verhältnismäßig große Linse zu vermeiden.

Injiziert wurden 10 µl ^{3}H-Leucin (wässrige Lösung von L- 4,5 ^{3}H-Leucin) mit der radioaktiven Konzentration von 1 µCi/µl und der spezifischen Aktivität von 105 Ci/mmol (Radiochemical Centre, Amersham/Großbritannien).

Die Injektion wurde immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt (9.00 - 9.30 Uhr).
Die Tiere wurden anschließend wieder in ihre Käfige zurückgebracht, sie zeigten keinerlei Auffälligkeiten in ihrem Verhalten.

Cycloheximid wurde wie Leucin appliziert. Es wurden 10 ml einer 10^{-3}M Lösung verwendet. Bei diesen Injektionen konnte oft die Einstichöffnung der vorausgegangenen Leucin-Injektion benützt werden. Nähere Angaben hierüber s. S. 42.

III. Operation

Bei einem Teil der Ratten wurden 2 Stunden nach der Leucininjektion die Retina entfernt, nachdem sie kurz zuvor erneut mit Äther narkotisiert worden waren. Der Bulbus wurde durch Erweiterung der Lidspalte mittels einer Lidklemme für die nachfolgend beschriebene Operation besser zugänglich gemacht (Abb. 1). Dann wurde die vordere Augenkammer durch einen etwa von Ora zu Ora serrate reichenden Schnitt eröffnet. Es wurde die Linse und ein Teil der Iris entnommen. Während der Bulbus mit einer Pinzette offengehalten wurde, konnte mit einer Pasteurpipette die Retina abgesaugt werden. Den Zustand nach Netzhautentfernung zeigt Abb. 2. Die anschließende Blutung in den Bulbus konnte meistens innerhalb der nächsten 5 min. mit Fibrinogenschwämmchen (Fibrinogen vom Rind, Behringwerke, Marburg/Lahn) gestoppt werden. Danach wurde unter dem Stereomikroskop kontrolliert, ob eine vollständige Absaugung gewährleistet war. Nach Blutungsstop wurden die Fibrinogenschwämmchen entfernt, die Linse wieder eingesetzt und die Schnittränder vernäht. Durch Einsetzen der Linse konnte später bei der Entnahme die retrobulbäre Durchtrennung des N. opticus (s.u.) besser vollzogen werden. Ein und zwei Stunden nach Retina-

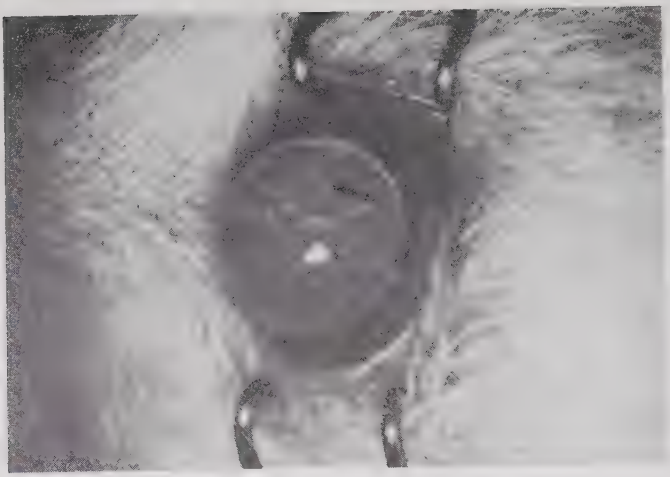

Abb. 1: Der Bulbus wurde zur Operation mittels einer Lidklemme besser zugänglich gemacht. Im oberen, äußeren Quadranten (→) des Bulbus kann man die Einstichöffnung der vorangegangenen Leucininjektion erkennen.

Abb. 2: Zustand nach Retinaentfernung. Man blickt auf die Chorioidea. Eine leichte Blutung erfolgt aus der A. centralis retinae.

entfernung wurden beide Nn. optici entnommen.

IV. Entnahme

Nach 1, 2 und 4 Stunden p.i. wurden beide Nn. optici entnommen. Die Tiere wurden durch eine Überdosis Äther getötet. Gleich anschließend wurde der Bulbus so freipräpariert, daß der N. opticus direkt retrobulbär abgetrennt werden konnte. Dieses Vorgehen konnte durch leichte Rollung des Bulbus nach kranial erleichtert werden.
Nach Eröffnung des Schädeldaches erfolgte die Abtrennung der Riechlappen und kaudal Durchtrennung im Bereich des Kleinhirns. Die zuvor retrobulbär durchtrennten Nn. optici konnten sodann durch vorsichtiges Entfernen des Großhirns nach dorsal schonend entnommen werden (SCHLOTE, 1970).
Nach Entnahme wurden sie sofort mit 10% (w/v) Trichloressigsäure (TCA) umspült. Die Entnahme dauerte weniger als 5 Minuten.
Unter der Lupe wurden die Nerven am Chiasma abgetrennt und bis zur baldigen Verarbeitung in 10%iger TCA-Lösung aufbewahrt.

V. Szintillationsmessung

Die einzelnen Nerven wurden mit einem Schneideapparat (Abb. 3) in 7 Segmente zerteilt.
Dieser Schneideapparat wurde gebaut, um möglichst präzise und reproduzierbare Teilstücke der Nerven zu gewinnen. Er besteht aus einem beweglichen Arm und einem feststehenden Sockel. An dem beweglichen Arm waren 10 Rasierklingen hintereinander in einer Position vertikal zu einer Rinne im Sockel angebracht. In diese Rinne wurde der N. opticus zum Schneiden gelegt. Durch Stahlplättchen gleicher Dicke, die als Zwischenstücke fungierten, konnte die gleiche Distanz der Rasierklingen erreicht werden.

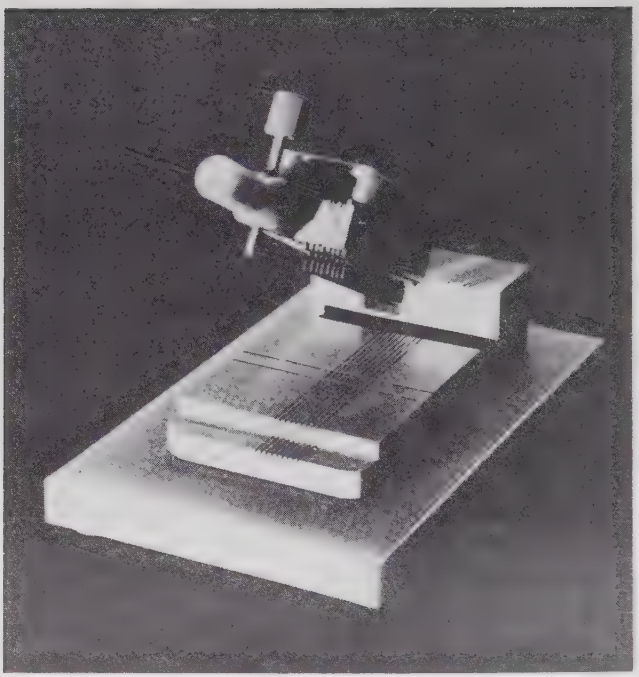

Abb. 3a: Schneideapparat. Er wurde konstruiert um Sehnerven-gleicher Länge zu erhalten.

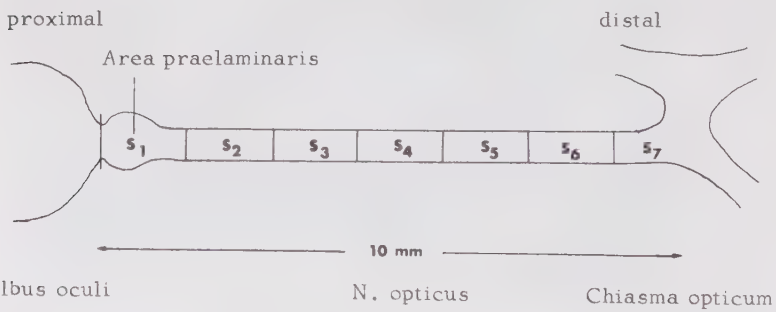

Abb. 3b: Schema: N. opticus mit Segmenten, die man durch den Schneideapparat erhalten hatte. Die Bezeichnungen proximal und distal beziehen sich auf den Verlauf des Fasersystems.

Durch Niederdrücken des beweglichen Arms bekam man Segmente identischer Länge (1,35 mm). Wegen der Abtrennung des N. opticus an der Sehnervenkreuzung war das chiasmanahe Teilstück meist etwas kleiner als die anderen. Deshalb wurde es nicht berücksichtigt. Um alle niedermolekularen Komponenten zu entfernen, wurden die einzelnen Segmente in 1 ml 10%iger TCA-Lösung bei 2°C 24 Stunden lang aufbewahrt. Anschließend wurden sie nach kurzem Waschen in destilliertem Wasser in Szintillationsgefäße, die 0,5 ml Protosol (0,5 M Lösung; New England Nuclear) enthielten, eingebracht. Nach 24 Stunden wurden pro Probe 10 ml Szintillationsflüssigkeit zugefügt. Sie besteht aus: 5 g PPO (2,5-Diphenyloxazol) + 0,5 g POPOP (p-Bis-2-(5-Phenyloxazolyl-)benzen) ad 1000 ml Toluol.
Nach Abklingen evtl. Chemoluminiszenz wurde die Zählrate in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Beta Scint BF 5000; DFG Ha 845/3) ermittelt. Die Zählzeit betrug 4 min. Von einem Rechner wurden die Impulse pro Minute = counts per minute (cpm) ausgedruckt. Die Untergrundstrahlung wurde bei jeder Messung mit 2 Leerproben determiniert.

VI. Herstellung von Semidünnschnitten für Lichtmikroskopie

Um die Qualität der Absaugung zu überprüfen, wurden bei solchen Ratten, denen die Netzhaut entfernt worden war, morphologische Kontrollen vorgenommen. Dazu wurde die Austrittszone des Sehnerven zusammen mit der angrenzenden Bulbusrückseite entnommen und in 2%iger Glutaraldehydlösung (in 0,1 M Cacodylatpuffer, pH 7,4) fixiert.
Vor der Nachfixierung in 1%iger OsO_4-Lösung (pH 7,4) wurden

die Gewebsstücke 2 x 15 min. in Cacodylatpuffer mit Saccharose gewaschen, und noch einmal nach Osmium-Fixierung.
Anschließend erfolgte Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe. Danach wurden die Stücke erst 2 x 10 min. in Propylenoxid gebracht, dann in ein Propylenoxid-Araldit-Gemisch 1:1 für 30 min. und 1:3 für 1-2 Stunden. Die Gewebsstücke wurden jetzt in die mit reinem Araldit gefüllten Flacheinbettungsformen übertragen. Die Polymerisation erfolgte bei 60°C 12 - 24 Stunden lang.
Nach Zutrimmen der Araldit blöcke wurden Semidünnschnitte hergestellt. Die Schnitte wurden so gelegt, daß - in Bezug auf den Sehnerven - Längsschnitte erhalten werden konnten. Gefärbt wurden sie mit Toluidinblau bei 70°C.

D Ergebnisse

I. Vorbemerkungen zur Darstellung

Bevor die Ergebnisse beschrieben werden, soll auf die Art der Darstellung der Radioaktivitätsverteilung im N. opticus eingegangen werden. Es wurde sowohl eine Absolutdarstellung als auch eine Relativdarstellung verwendet.

Für die Absolutdarstellung wurde die Nettozählrate verwendet. Diese Nettozählrate wurde ermittelt, indem von der Bruttozählrate - dem vom Gerät ausgedruckten Wert - die Impulsrate des Nulleffektes subtrahiert wurde. Unter Nulleffekt (background) werden alle Impulse verstanden, die der Detektor des Szintillationszählers liefert, ohne daß sie von der zu messenden Strahlung herrühren (LISSNER und HUG, 1975). Er setzt sich hauptsächlich aus den Anteilen der natürlichen Umgebungsstrahlung (kosmische und terrestrische Strahlung) und der Eigenaktivität des Detektors und dessen unmittelbarer Umgebung zusammen (Bleiabschirmung, Fotomultiplier).
Die Zählrate des Nulleffektes wurde mit einer Leerprobe bestimmt und war meist niedrig, sie betrug selten mehr als 100 cpm.

Außerdem wurde eine Relativdarstellung verwendet, um trotz interindividueller Schwankungen der Absolutwerte bei den einzelnen Tieren eine bessere Aussage über das Profil der Aktivitätsverteilung zu gewinnen.
Betrachtet man die Zählrate des gesamten Sehnerven, so zeigt sich, daß bei gleichen Versuchsbedingungen größere Unterschiede in den absoluten Aktivitäten von Nerv zu Nerv auftreten. Diese Unterschiede sind auf Variationen der Leucin-Applikationen an den Perikarya der Ganglienzellen zurückzuführen. Sie sind also

Folge von Angebotsschwankungen an die Ganglienzellen bei der Injektion der Lösung in den Bulbus oculi.
Variationen der Menge des radioaktiven Leucins durch Rückfluß aus der Injektionsstelle nach Entfernung der Kanüle können ebenso zu den Unterschieden beitragen.
Die Relativdarstellung eliminiert solche Schwankungen. Die Summe der Zählraten der Segmente 2 - 6 wurde gleich 100% gesetzt. Hiervon wurde für jedes Teilstück der prozentuale Anteil errechnet.

Das bulbusnahe, erste Segment wurde bei der Relativdarstellung nicht berücksichtigt. Es umfaßt die Area prälaminaris und einen Teil der Area laminaris. Wie aus Abb. 4 zu entnehmen ist, zeigt es in den Absolutwerten eine wesentlich stärkere Schwankung als jedes der anderen Segmente für sich betrachtet. Hätte man auch dieses Segment bei gleicher Berechnung der Relativwerte berücksichtigt, dann hätte sich kein einheitliches Bild ergeben, die Profile wären dadurch eher verfälscht worden. Die Aussonderung des ersten Segmentes ist auch wegen des andersartigen architektonischen Aufbaus und der andersartigen Blutversorgung gerechtfertigt (SCHLOTE, 1970).

Die Werte der Tab. I wurden ebenfalls ohne das erste Teilstück erstellt. Als Gesamtaktivität wurde die Summe der Zählraten der Segmente 2 - 6 bezeichnet.

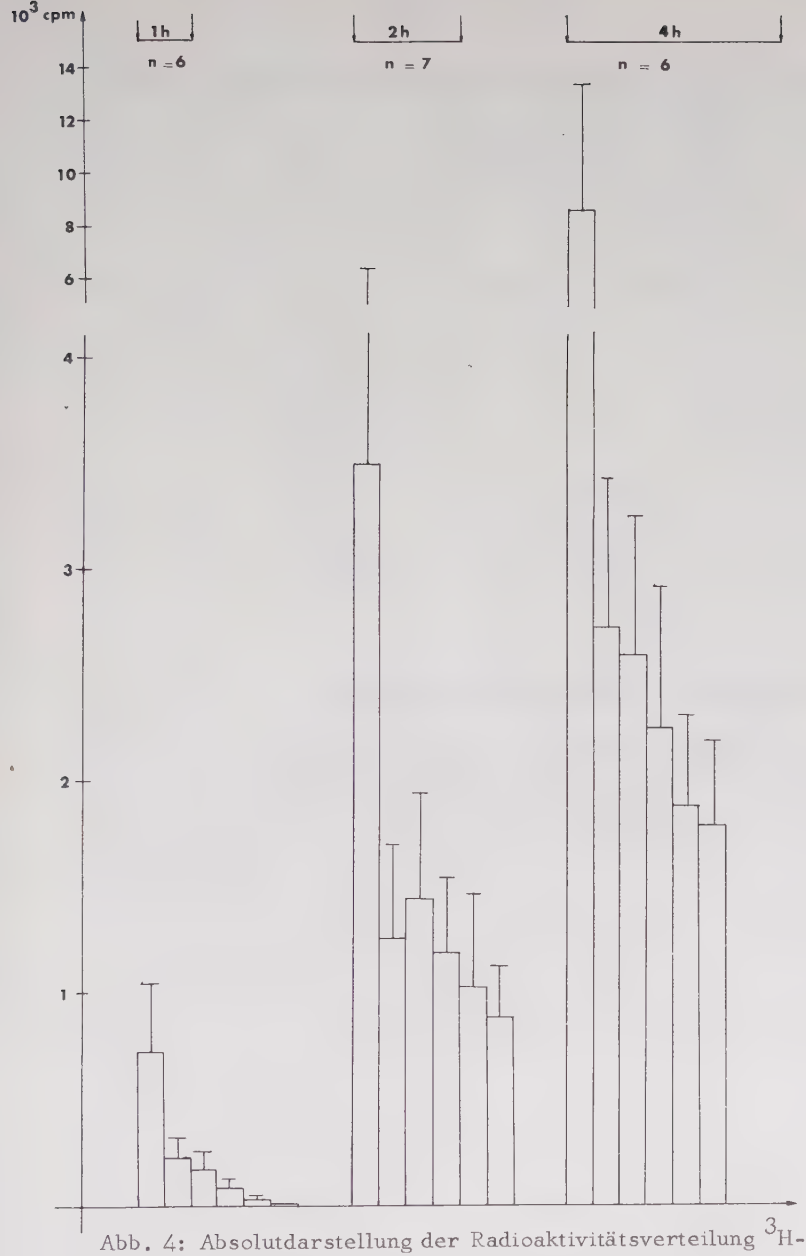

Abb. 4: Absolutdarstellung der Radioaktivitätsverteilung ^{3}H-Leucin-verbindungen im N. opticus 1, 2 und 4 Stunden p.i. Auf der Abszisse sind die Teilstücke des Sehnerven aufgetragen. Das linke erste Teilstück entspricht jeweils dem bulbusnahen. Oben: schematische Darstellung der Versuchsdauer.

Tabelle I: Vergleich der Radioaktivitäten im gesamten N. opticus (Segment 2 - 6).
CHX = Cycloheximid
cpm = counts per minute
Absaugung = Retinaentfernung mit Pipette

Zeit zwischen Injektion und Entnahme	Radioaktivität im gesamten N. opticus in cpm	
1 h (10 ul)	537 ± 255	n = 6
2 h (10 ul)	5827 ± 1885	n = 7
2 h (5 ul)	2575 ± 612	n = 6
4 h (10 ul)	11251 ± 2886	n = 6
4 h (nach 2 h CHX) (10 ul)	3637 ± 2091	n = 6
3 h (nach 2 h Absaugung) (10 ul)	1642 ± 941	n = 5
4 h (nach 2 h Absaugung) (10 ul)	1041 ± 262	n = 5

II. Der ungestörte schnelle axonale Transport

1. Verteilung der Aktivität nach 1, 2 und 4 Stunden

Der schnelle axonale Transport wurde durch Ermittlung der Radioaktivitätsverteilung im N. opticus der Ratte nach intraocularer Injektion von 10 µCi ^{3}H-Leucin untersucht. Es wurde stets einseitig injiziert, um mit dem kontralateralen Opticus Vergleiche über nicht-axonal transportierte Radioaktivität anstellen zu können. Das injizierte radioaktive "heiße" Leucin konkurrierte mit dem nicht-markierten (sowohl körpereigenem als auch nicht-markiertem aus der Injektionslösung) um die Aufnahme in die Ganglienzellen. Da die Zelle zwischen ihnen nicht unterscheiden kann, wurden beide - "heiß" und "kalt" - in Proteine inkorporiert und ins Axon exportiert. Die mit "heißen" Leucinmolekülen etikettierten Verbindungen konnten durch ihre ß-Strahlung, die beim Zerfall des Tritiums entsteht, von einem Szintillationszähler gemessen werden.

Die Nerven wurden vor der Messung mit Trichloressigsäure behandelt, um so alle niedermolekularen, nicht in hochmolekularen Verbindungen inkorporierte Aktivität zu extrahieren. Die Ergebnisse beziehen sich alle auf TCA - unlösliche Verbindungen.

Nach 1 Stunde befinden sich geringe Mengen Radioaktivität im N. opticus. Nur die proximalen Segmente sind stärker markiert (Abb. 4). Die weiter distal gelegenen Teilstücke nehmen rasch an Aktivität ab, so daß bei Segment 5 nur noch ebenso viel Aktivität wie im entsprechenden kontralateralen Opticussegment festgestellt werden kann, welches nur über das Blutsystem markiert worden sein konnte (Abb. 5). In der Profildarstellung erkennt man einen steilen nach distal abfallenden Gradienten. Die Front der Aktivität hat eben das 4. Segment passiert, aber das 5. noch nicht erreicht; sie liegt zwischen beiden. In Abb. 5 überragt zwar das ipsilaterale Segment das korrespondierende kontralaterale (das auf der nicht-injizierten Seite nur vom Blut her markiert worden sein konnte) etwas, doch überlappen sich die beiden Standardabweichungen. Um eine tatsächliche Überhöhung des ipsilateralen über das kontralaterale Segment auszuschließen, wurde ein t-Test für paarige Stichproben durchgeführt (Unter der Voraussetzung, daß die Zufallsvariablen identisch und unabhängig verteilt sind). Es konnte auf einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0{,}05$ für das 5. Teilstück kein Unterschied festgestellt werden. Für das 4. Segment war der Unterschied jedoch signifikant (KREYSZIG, 1975).

Nach 2 Stunden hat sich die Zählrate der Aktivität drastisch vermehrt (Abb. 4). Ein Vergleich der Gesamtaktivitäten in Tab. I zeigt eine etwa 10fache Zunahme gegenüber dem Zustand nach 1 Stunde. Der proximo-distale Gradient, der nach 1 Stunde stark ausgeprägt war, hat sich deutlich abgeschwächt (Abb. 6). Das markierte Leucin wurde also in zunehmendem Maße distalwärts

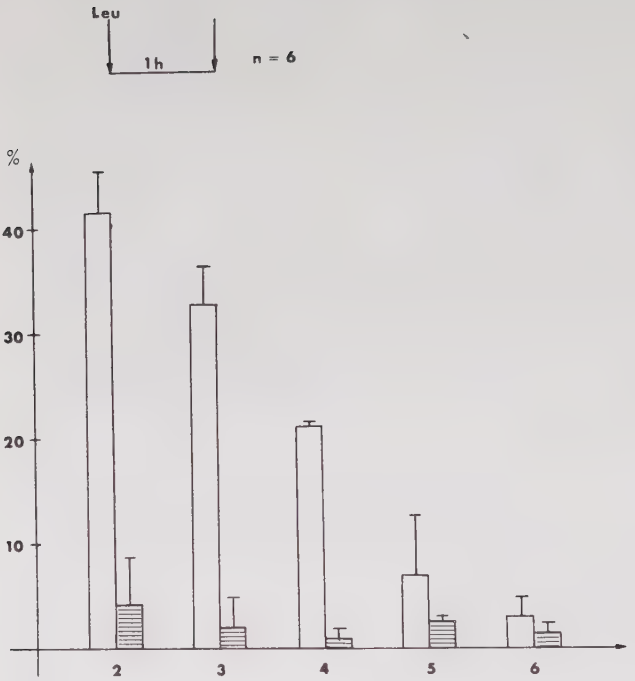

Abb. 5: Relativdarstellung der Radioaktivitätsverteilung der ^{3}H-Leucinverbindungen nach 1 Stunde. Die Summe der Aktivitäten der Teilstücke auf der injizierten Seite wurden 100% gesetzt. Davon wurden die Anteile der einzelnen Segmente errechnet (nicht schraffiert). Schraffiert dargestellt ist die Aktivität des kontralateralen Sehnervens, der nur über das Blut markiert worden sein konnte. Die Anteile der kontralateralen Teilstücke wurden auf die Aktivität des gesamten ipsilateralen Systems bezogen.

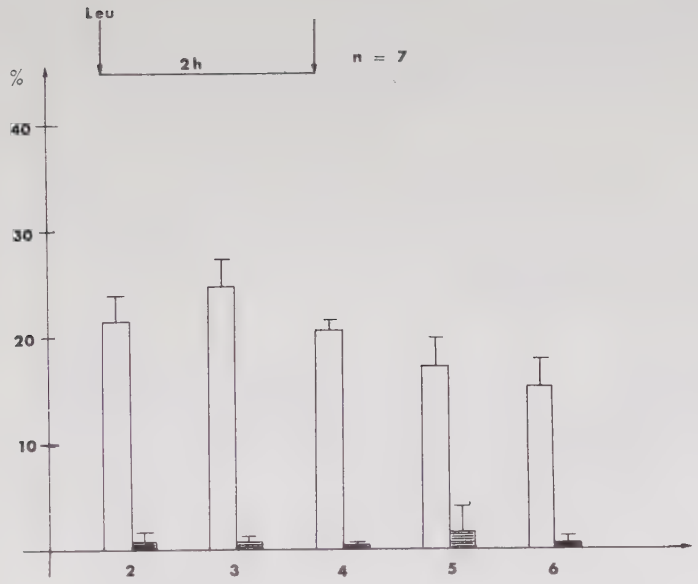

Abb. 6: Relativdarstellung der Radioaktivitäts-
verteilung nach 2 Stunden. Darstellung wie in Abb. 5.

transportiert.
Auffällig ist das 3. Segment, es zeigt konstant eine leichte Erhöhung über die anderen Segmente. Diese Erhöhung konnte bei jedem Versuchstier nach 2 Stunden reproduziert werden. Dies ist beachtenswert, da dieses Teilstück 4 mm vom Bulbus entfernt ist und somit kurz vor dem Eintritt des Nerven in den Canalis opticus liegt. SCHLICHTER und McCLURE (1974) erhielten bei Versuchen am Opticus der Ratte 90 min. nach Injektion ein Plateau, das sich ebenfalls an dieser Stelle befindet (4-5 mm vom Bulbus entfernt).

Auch für das 3. Segment wurde ein t-Test angewandt (wiederum unter der gleichen Voraussetzung wie oben). Es ergab sich eine signifikant höhere Aktivität ($\alpha = 0,05$) des 3. Segmentes über das von ihm proximal liegende Teilstück.

Nach 4 Stunden p.i. findet sich eine noch größere Menge Aktivität im Opticus (Abb. 4 und Tab. I). Doch die Zunahme hat sich verlangsamt. Während sich die Impulsrate im Opticus von 1 - 2 Stunden um 5257 cpm gesteigert hatte, hatte sie jetzt im Zeitraum von 2 - 4 Stunden nur um 5424 cpm zugenommen (Tab. I). Dies zeigt einen verminderten Nachschub an markierten Molekülen an.
In der Profildarstellung (Abb. 7) zeigt sich ein leichter, aber kontinuierlich nach distal abfallender Gradient, der sich gegenüber der Relativdarstellung nach 2 Stunden nur noch wenig verändert hat. Das 3. Segment hat sich "eingegliedert". Es zeigt keine Erhöhung der Aktivität über das proximal liegende Teilstück mehr.

Es wurden ebenfalls Versuche mit geringerer Menge Tracer durchgeführt. Bei Injektion von nur 5 µl ^{3}H-Leucin in das rechte Auge bei gleichen Versuchsbedingungen wie oben zeigte sich, daß entsprechend weniger Leucin inkorporiert wurde (Tab. I).
Bei 2 Stunden Versuchsdauer wurden Vergleiche in der Menge und

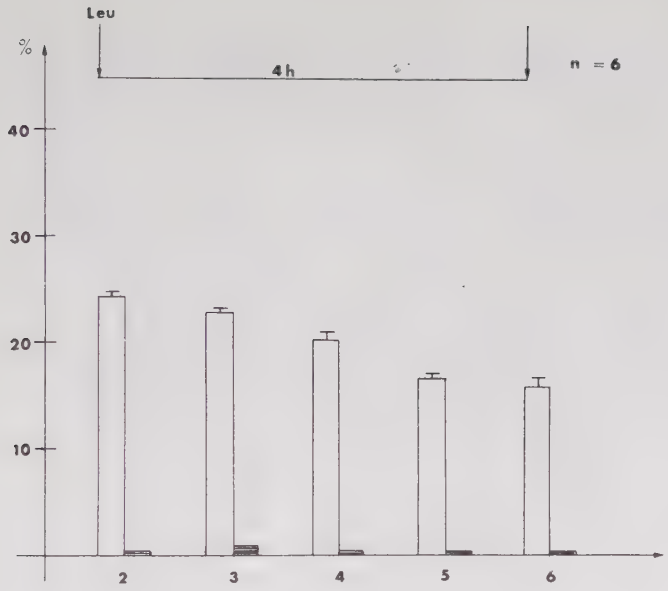

Abb. 7: Relativdarstellung der Radioaktivitätsverteilung nach 4 Stunden. Darstellung wie in Abb. 5.

in der Verteilung der Aktivität angestellt. Man findet bei Injektion von 5 µl eine 2,2fach geringere Gesamtaktivität als bei Injektion der doppelten Menge (Tab. I). Ungefähr dasselbe Verhältnis spiegelt sich bis auf das erste Segment in der Absolutdarstellung wider (Abb. 9). Ein fast identisches Profil ergibt sich für 5 µl und für 10 µl nach 2 Stunden aus der Relativdarstellung (Abb. 8).

Weitere Versuche mit größerem Leucinvolumen wurden nicht durchgeführt. Man kann wegen des anatomischen Aufbaus des Rattenauges kaum größere Mengen in den Bulbus einbringen, wenn man nicht Gefahr laufen will, größere Verluste durch Rückfluß aus dem Stichkanal in Kauf nehmen zu müssen. Messungen ergaben eine Größe des Bulbusinnendurchmessers von 6,0 mm was bei näherungsweise kugelförmig angenommenem Bulbus einem Volumeninhalt von ca. 110 µl entspricht. Allein die Linse nimmt davon über die Hälfte in Anspruch. Bezieht man die anderen Strukturen des Bulbus noch ein, so erkennt man, daß das Injektionsvolumen nicht mehr sehr vergrößert werden kann.

2. Die nicht-axonal transportierte Aktivität

Man muß grundsätzlich mit zwei Störfaktoren rechnen, die sich der axonal transportierten Aktivität überlagern. Es handelt sich einmal um die sog. Blutmarkierung und zum anderen um die Diffusion.

Bei der Blutmarkierung handelt es sich um ^{3}H-Leucin, das über das Gefäßsystem an den Sehnerven herantransportiert und lokal in höhermolekulare Bestandteile eingebaut wird. Das Leucin gelangt nach der Injektion durch Resorption aus der Glaskörperflüssigkeit über kleine Gefäße ins Blutsystem. Hierdurch wird eine rasche Generalisation erreicht. Es resultiert eine Untergrundmarkierung des gesamten Tieres, die sich störend auf die eigentliche

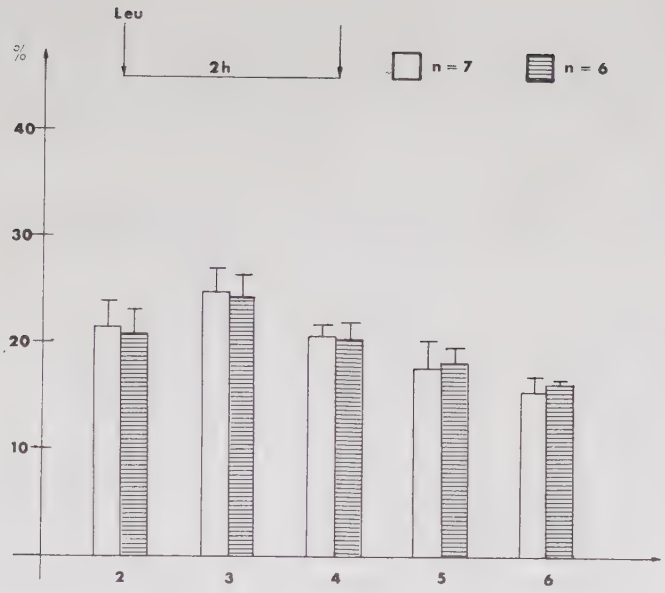

Abb. 8: Vergleich der Relativdarstellungen der Radioaktivitätsverteilungen nach 2 Stunden bei Injektion von 5 µl und 10 µl. Schraffiert ist die Verteilung, die nach Injektion von 5 µl erhalten wurde. Darstellung wie in Abb. 5. Die Verteilung ist unabhängig von der injizierten Menge.

Abb. 9: Vergleich der Absolutdarstellungen der Radioaktivitätsverteilungen nach 2 Stunden bei Injektion von 5 µl und 10 µl. Schraffiert ist die Verteilung, die nach Injektion von 5 µl gewonnen wurde. (Mit Ausnahme von Segment 1 ist die Verteilung unabhängig von der injizierten Menge.)

Meßgröße auswirkt. Zur Ermittlung der Blutmarkierung wurde jede Injektion nur einseitig vorgenommen, anschließend wurden aber beide Nn. optici der Szintillationsmessung zugeführt. Die somit im kontralateralen Sehnerven ermittelte Aktivität konnte als Maß für die Blutmarkierung gelten. Sie war bei den verschiedenen Versuchen etwa gleich niedrig.
Drückt man die kontralaterale Aktivität als Prozentsatz der ipsilateralen aus, so zeigt sich, daß die Blutmarkierung bei den Versuchen vernachlässigbar klein war. Tab. II gibt einen Überblick.

Tab. II: Prozentualer Anteil der Radioaktivität des gesamten kontralateralen N. opticus (Segment 2-6) an der Aktivität des gesamten ipsilateralen N. opticus (für 1, 2 und 4 Stunden nach Leucininjektion)

1 Std.	2 Std.	4 Std.
$9,4 \pm 5,2\%$	$3,2 \pm 3,4\%$	$0,7 \pm 1,1\%$

Je länger der Transport verfolgt wurde, desto geringer wurde der Anteil der kontralateralen zur ipsilateralen Aktivität. Dieser Prozentsatz gibt aber auch ungefähr das Verhältnis nicht-axonal transportierter Aktivität (kontralateral) zu axonal transportierter Aktivität (ipsilateral) wider. Unter diesem Gesichtspunkt betrachtet zeigt Tab. II, daß die axonal transportierte Aktivität mit der Zeit im gesamten N. opticus stetig ansteigt bei immer weniger ins Gewicht fallender nicht-axonaler Aktivität. Allerdings gab es auch Versuchstiere, bei denen die Gesamtaktivität des kontralateralen Opticus mehr als 20% des ipsilateralen betrug. Diese Tiere wurden aber nicht berücksichtigt. Man muß

davon ausgehen, daß bei der Injektion ins Auge dieser Tiere Schäden gesetzt wurden, die Anlaß zu einem verstärkten Übertritt der markierten Aminosäure ins Blutsystem gaben. Der Vergleich des injizierten mit dem nicht-injizierten Opticus konnte somit als Injektionskontrolle dienen.

Als zweite Störquelle kommt die Diffusion in Betracht. Es ist denkbar, daß nicht inkorporiertes ^{3}H-Leucin entlang der Axone der Ganglienzellen extracellulär diffundiert und dort in Glia- und Gefäßwandzellen eingebaut wird (ähnlich wie bei der Blutmarkierung).
Die Diffusion wurde nicht direkt gemessen (wie z.B. mit Cycloleucin, das nicht axonal transportiert wird). Doch konnte man indirekt aus folgender Versuchsanordnung auf ihre Größe schließen: Nach beidseitiger Leucininjektion von 10 µl wurden 5 min. später einseitig 10 µl 10^{-3} M Cycloheximid appliziert. Beide Nerven wurden 2 Stunden nach der Leucininjektion entnommen. Die Aktivität in dem Nerven, der unter der Wirkung des Proteinsynthesehemmers stand, betrug nur $3,7 \pm 2,7\%$ der Aktivität des nicht mit Cycloheximid behandelten Kontrollnerven. Dies zeigt: wenn der Synthesehemmer 5 min. nach der Tracerinjektion gegeben wurde, so konnte er trotzdem noch den Einbau des markierten Leucins in Proteine effektiv hemmen. Weil aber wegen der Synthesehemmung des Cycloheximids (s.u.) keine axonale Aktivität als hochmolekulare Bestandteile im Nerv transportiert werden konnte, blieb als einzige Quelle für die Markierung die Zufuhr über den Blutweg und über die Diffusion. Da man auch in diesem Versuch der Blutmarkierung Rechnung tragen muß, kann daraus geschlossen werden, daß die Diffusion bei Injektion dieser Menge Leucin keine große Bedeutung hat: das hier ermittelte Verhältnis ist ungefähr gleich groß wie der für die Blutmarkierung nach 2 Stunden errechnete

Prozentsatz 3,2 ± 3,4% (Tab. II). (Auch wenn die Proteinsynthesehemmung mit Cycloheximid nicht vollständig war, so scheint die evtl. axonal transportierte Aktivität gegenüber der Blutmarkierung verschwindend gering zu sein. Wenn nennenswerte Mengen transportiert worden wären, dann hätte man wenigstens über die Blutmarkierung hinausgehende Werte finden müssen.)

3. Die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transportes

Nach 1 Stunde Transport ist die Aktivität des ipsilateralen N. opticus bei Segment 5 auf das Niveau der Aktivität des korrespondierenden kontralateralen abgesunken. Es wurde bereits berichtet, daß mit einem t-Test für paarige Stichproben kein signifikanter Unterschied für das ipsilaterale Segment 5 gegenüber dem kontralateralen festgestellt werden konnte, wohl aber für Segment 4. Unter der Annahme etwa gleich starker Blutmarkierung des ipsi- wie des kontralateralen Sehnerven, kann man folgern, daß sich die Front der axonal transportierten Verbindungen (ipsilateral) nach 1 Stunde bis zu einer Stelle zwischen Segment 4 und Segment 5 bewegt hat. Die Aktivitätsfront hat sich also 6 mm von der Bulbusrückseite entfernt. Um die gesamte Transportstrecke zu ermitteln, müssen hierzu noch intrabulbäre Faserabschnitte, die bis zum Skleradurchtritt reichen, addiert werden. Wenn man annimmt, daß das in vorderster Front transportierte Material aus den der Papille am nächsten gelegenen Ganglien stammt, so können für die intraoculären Faserabschnitte etwa 1 mm geschätzt werden. Zusammen ergibt sich eine Transportgeschwindigkeit von 7 mm in 1 Stunde oder 168 mm pro Tag. Hierin ist jedoch nicht die sog. "somal delay"-Zeit berücksichtigt, die Zeit, die bis zum ersten Erscheinen von Aktivität im Initialsegment des Axons vergeht. Legt man den von SCHLICHTER und McCLURE (1974) für den Sehnerven der Ratte bestimmten Wert von 18 min. zugrunde, so erhält man

eine axonale Transportgeschwindigkeit von 240 mm/Tag.

III. Der gestörte schnelle axonale Transport

1. Der Einfluß von Cycloheximid

Es ist bekannt, daß Cycloheximid die Proteinsynthese hemmt, und zwar auf verschiedenen Stufen. Seine wichtigste Wirkung ist die Hemmung der Freisetzung der t-RNA von der Donor-Seite der Ribosomen (OBRIG et al., 1971).

Wie schon im Abschnitt über die Diffusion berichtet wurde, war mit einer Cycloheximid-Injektion 5 min. nach der Leucin-Injektion keine Aktivität im Sehnerven beobachtet worden, die über die Blutmarkierung hinausging.

Um zu sehen, welchen Einfluß Cycloheximid auf die schon bekannten Verteilungen des axonalen Transports hat, wurde nach einem Intervall von 2 Stunden nach einer Leucin-Injektion 10 µl 10^{-3}M Cycloheximid ins gleiche Auge appliziert. Somit war eine gewisse Menge der sich schnell bewegenden Proteine bereits vor der Hemmung der Proteinsynthese gebildet und ins Axon geschleust worden. Nach weiteren 2 Stunden wurde der N. opticus entnommen und die Verteilung der Aktivität bestimmt. Es resultierte also eine Gesamtversuchsdauer von 4 Stunden.

Wie Abb. 10 zeigt, haben die Werte für jedes Teilstück im Vergleich zu den 4-Stundenwerten des nicht gestörten Transports stark abgenommen. Dies kommt auch in Tab. I für die Gesamtaktivität zum Ausdruck.

Darüberhinaus kann man aus Tab. I erkennen, daß die Gesamtaktivität der mit Cycloheximid behandelten Ratten diejenige der Ratten mit nur 2 Stunden ungestörten Transports unterschreitet. Die Aktivität im gesamten Opticus für den ungestörten Transport beträgt nach 4 Stunden ca. 3 mal soviel und nach 2 Stunden ca. 1,6 mal soviel wie in den mit Cycloheximid behandelten Ratten.

Abb. 10: Vergleich der Radioaktivitätsverteilung (absolut) der mit Cycloheximid (CHX) behandelten Ratten mit den nicht behandelten. Aktivitätsmessung erfolgte beidemal nach 4 Stunden p.i., Applikation von Cycloheximid 2 Stunden p.i.

Die Relativdarstellung zeigt einen kontinuierlich nach distal abfallenden Gradienten (Abb. 11). Trotz der starken Aktivitätsunterschiede des Gesamtnerven und der einzelnen Segmente ist das Profil fast identisch mit dem welches nach 4 Stunden ungestörten Transports gewonnen werden konnte (Abb. 7 und 12).

2. Der Einfluß der Entfernung der Perikarya der retinalen Ganglienzellen

Nach Kontinuitätsstörungen von Nervenfasern treten degenerative Erscheinungen im Säugernerven relativ langsam ein. Es wurde berichtet, daß der schnelle axonale Transport in den Axonen nach Isolation von den Perikarya in der Anfangszeit vor Eintritt dieser Veränderung ungestört bleibt (OCHS und RANISH, 1969). Um dies zu überprüfen, wurde die Retina 2 Stunden nach Leucin-Injektion mittels einer Pasteurpipette abgesaugt. Wegen ihrer gallertartigen Konsistanz konnte die Netzhaut sauber und vollständig von der Chorioidea abgetrennt werden. Um dies sichtbar zu machen, wurden die Bulbi von Tieren, bei denen eine Absaugung vorgenommen worden war, lichtmikroskopisch kontrolliert. Abb. 13 zeigt einen Längsschnitt durch den Opticus mit angrenzender Bulbusrückseite. Man sieht, daß die Fasern am Skleradurchtritt abgerissen sind. Die Netzhaut wurde sauber von der Chorioidea abgetrennt (Abb. 14). Nur noch wenige, vernachlässigbare Reste hängen am Discus n. optici, sie haben aber keine Verbindung mit den Axonen mehr. Man kann also davon ausgehen, daß die Perikarya vollständig entfernt wurden. Die Möglichkeit, daß irgendwo intakte Neurone durch Nachlieferung von Proteinen die Untersuchung hätten stören können, scheint nicht gegeben zu sein. Die Entfernung der Netzhaut wurde jeweils 2 Stunden nach Leucin-Injektion vorgenommen, nach weiteren 1 bzw. 2 Stunden wurden die Nerven entnommen und die Aktivitätsverteilung bestimmt. Zum Zeitpunkt der Ab-

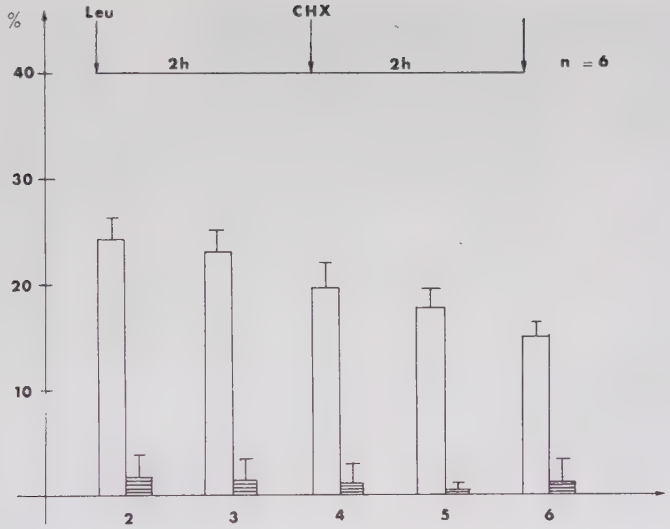

Abb. 11: Relativdarstellung der Radioaktivitätsverteilung im Sehnerven nach Einfluß von Cycloheximid (CHX). 2 Stunden nach Leucininjektion wurde Cycloheximid gegeben. Die Aktivitätsmessung erfolgte nach einer Gesamtversuchsdauer von 4 Stunden. Schraffiert: Blutmarkierung

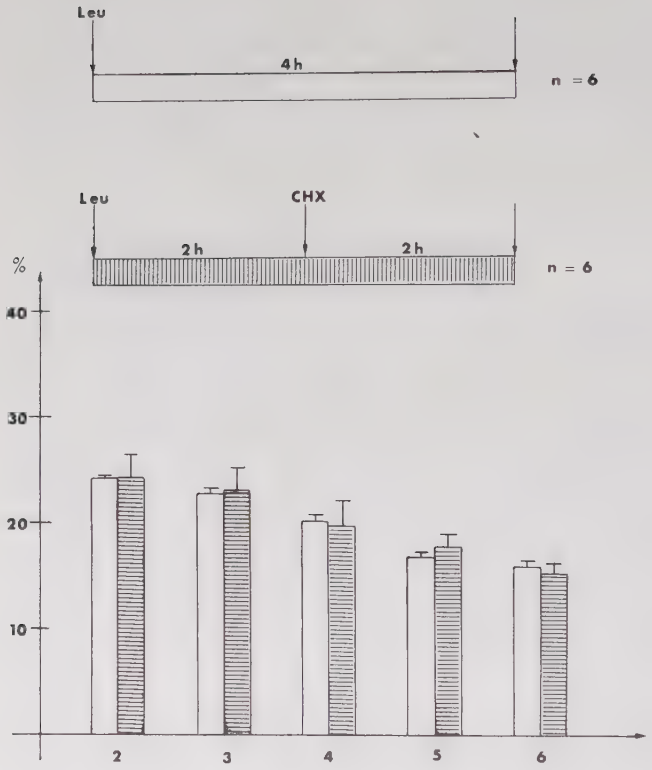

Abb. 12: Vergleich der Radioaktivitätsverteilung (relativ) der mit Cycloheximid (CHX) behandelten Ratten mit den nicht behandelten. Aktivitätsmessung erfolgte beidemal 4 Stunden p.i., Applikation von Cycloheximid 2 Stunden p.i. (schraffiert).

Abb. 13: Längsschnitt durch die Austrittszone des N. opticus. Zustand nach der Netzhautabsaugung. Die Nervenfasern sind im laminären Anteil der Austrittszone abgerissen (→). 50 : 1. L (Area laminaris), P (Area praelaminaris), B Bulbus oculi, S Sclera-Rand

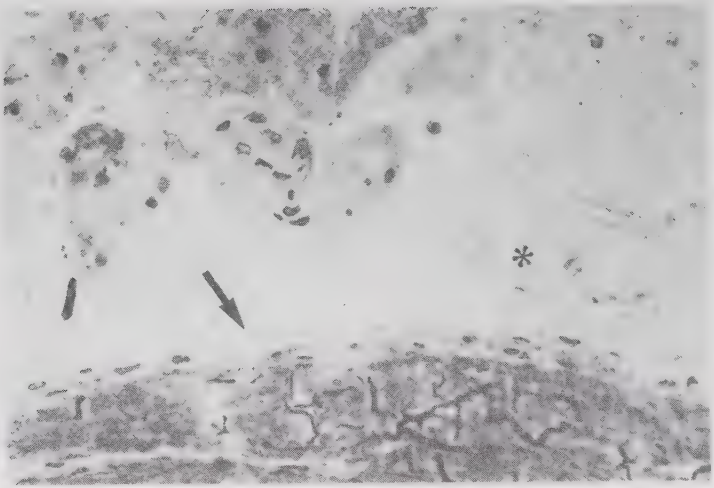

Abb. 14: Ausschnitt aus einem Schnitt durch den Bulbus. Man erkennt, daß die Netzhaut sauber von der Chorioidea abgetrennt wurde (→). Reste der Netzhaut in Papillennähe (rechts, *) haben keine Verbindung mit den Axonen mehr. 125 : 1.

saugung herrschten somit genau definierte Ausgangsbedingungen: Die Menge an Aktivität, die sich im Nerv befunden hatte, war hinreichend bekannt (Tab. I). Sie konnte nicht mehr durch perikaryalen Nachschub vermehrt werden. Außerdem herrschte die Aktivitätsverteilung vor, die man nach 2 Stunden ungestörten Transportes findet. Die Gesamtaktivität in den Nn. optici hat sich extrem vermindert (Abb. 15 und Tab. I). Bei den Tieren, die die Retinaentfernung 1 Stunde überlebten, beträgt sie nur noch 28% derjenigen Gesamtaktivität, die zum Zeitpunkt der Absaugung vorgelegen haben mußte. Bei jenen Tieren, die 2 Stunden überlebten, ist die Gesamtaktivität noch weiter abgefallen. Hier beläuft sie sich nur noch auf 17% des Bezugswertes (Tab. I).

In der Relativdarstellung (Abb. 16) zeigt sich bei den Ratten, denen der Sehnerv 1 Stunde nach Absaugung entnommen wurde, eine Erhöhung besonders bei Segment 3 und eine leichtere bei Segment 5. An Tieren, bei denen die Entnahme 2 Stunden nach Netzhautentfernung vorgenommen wurde, zeigt sich ein leichter proximo-distaler Gradient bis zum Segment 4, der aber von hier aus nach weiter distal hin wieder ansteigt (Abb. 17).

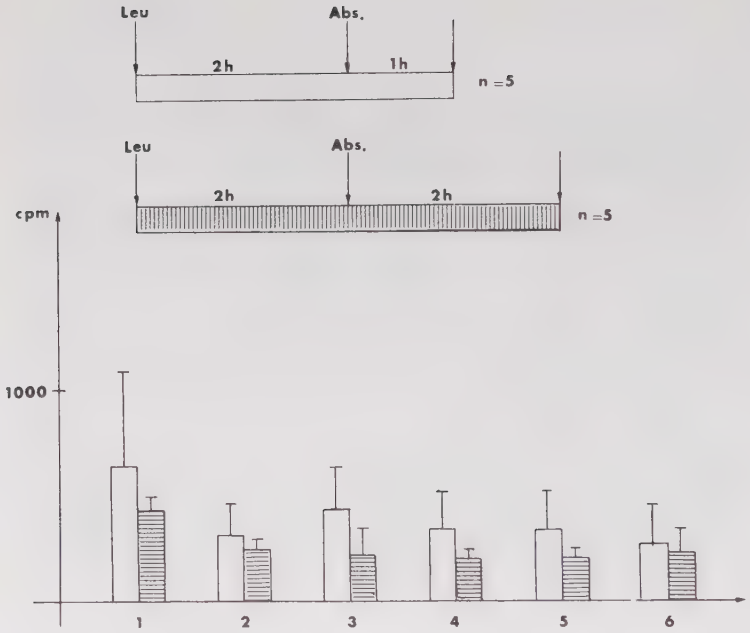

Abb. 15: Absolutdarstellung der Radioaktivitätsverteilung bei Netzhautentfernung 2 Stunden nach Leucininjektion. Nicht-schraffiert: Entnahme 1 Stunde nach Absaugung. Schraffiert: Entnahme 2 Stunden nach Absaugung.

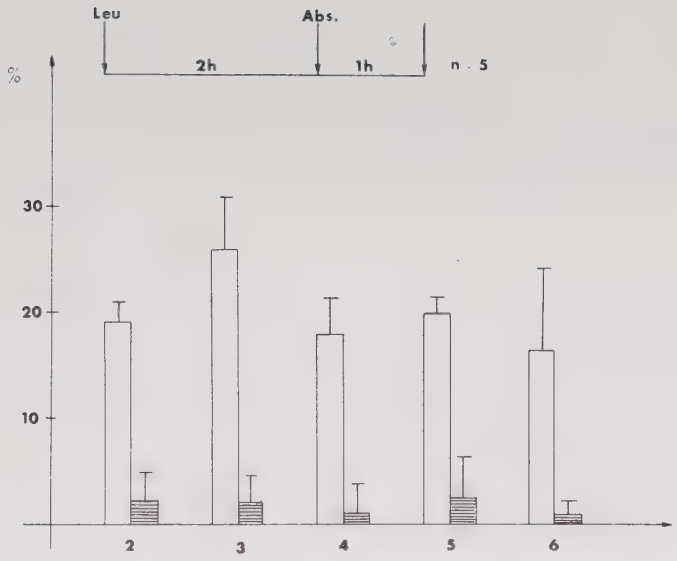

Abb. 15: Relativdarstellung der Radioaktivitätsverteilung der Ratten bei Retinaentfernung 2 Stunden nach Leucininjektion (Leu). Entnahme erfolgte 1 Stunde nach Netzhautabsaugung. Abs. = Absaugung. Schraffiert: Blutmarkierung.

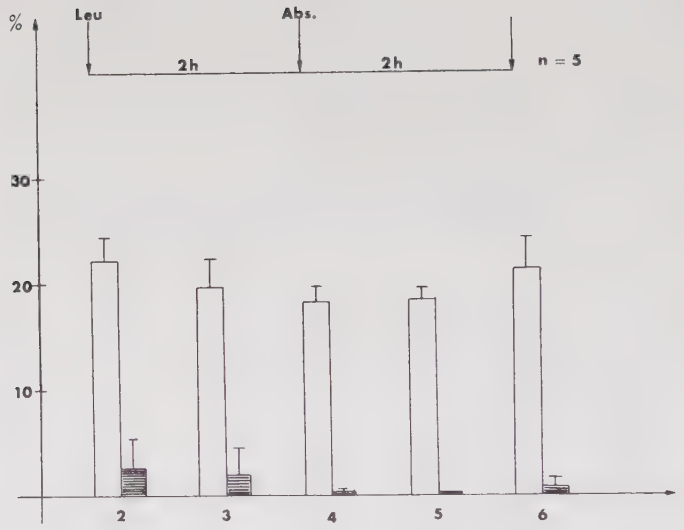

Abb. 17: Relativdarstellung der Radioaktivitätsverteilung der Ratten, denen die Retina 2 Stunden nach Injektion entfernt wurde. Entnahme erfolgte 2 Stunden nach Absaugung. Abs. = Absaugung. Schraffiert: Blutmarkierung.

E Diskussion

I. Die Radioaktivitätsverteilung

Der schnelle axonale Transport radioaktiv markierter Aminosäuren wurde im N. opticus nach Injektion von ^{3}H-Leucin in die Glaskörperflüssigkeit dargestellt. Während 1 Stunde nach der Injektion noch verhältnismäßig wenig Aktivität im Sehnerven wiedergefunden wird, steigt sie stark an, wenn man 2 oder 4 Stunden p.i. untersucht. Die starke Zunahme der Gesamtaktivität im Opticus in der Zeiteinheit ergibt sich daraus, daß die im Glaskörperdepot vorhandenen, injizierten Aminosäuren in zunehmendem Maße für die Proteinsynthese verwendet werden. Das wird auch durch den Quotienten der Aktivität der injizierten zu der nicht-injizierten Seite dokumentiert. Gezeigt wurde dies auch für das optische System des Goldfisches (McEWEN und GRAFSTEIN, 1968) und des Kaninchens (KARLSSON und SJÖSTRAND, 1968). SJÖSTRAND und HANSSON (1971) hatten nach Leucininjektion ins Rattenauge sehr ähnliche Verteilungen gewonnen. Sie konnten ebenso einen starken proximo-distalen Abfall nach 1 Stunde beobachten. Genauso konnten sie weniger steile Gradienten nach 2 und 4 Stunden feststellen. Ähnlich waren auch die von KARLSSON und SJÖSTRAND (1969) für das Kaninchen ermittelten Verteilungen.

Wenn die injizierte Menge vermindert wurde, so ergab sich nach gleicher Zeit das gleiche Profil. Nur die absolute Menge an Aktivität hat sich vermindert. Dies deutet darauf hin, daß die Aufnahme in die Zellkörper (Perikarya) der Ganglienzellen proportional zur angebotenen Menge erfolgt. Für noch größere Mengen ist eine Sättigung zu erwarten. Doch wird diese Menge schwer zu bestimmen sein, denn nur ein kleiner Prozentsatz der injizierten Aktivität wird in Proteine inkorporiert. McEWEN und GRAFSTEIN

(1968) konnten dies für den Opticus des Goldfisches zeigen. Nur 4% der injizierten Dosis werden in Proteine eingebaut. Unter diesen Voraussetzungen würde das Injektionsvolumen, das zur Bestimmung der Sättigung notwendig ist, das Fassungsvermögen des Bulbus übersteigen.

Auffallend bei der Aktivitätsverteilung nach 2 Stunden ist das 3. Sehnervensegment. Seine Aktivität ist regelmäßig erhöht, und zwar sowohl bei den Ratten, die 10 µl, als auch bei denen, die 5 µl Leucinlösung erhalten hatten.
Interessant ist, daß SJÖSTRAND und HANSSON (1971) zwar eine Erhöhung des 3. Segmentes nicht explizit beschrieben, doch kann aus einer Abbildung in ihrer Arbeit entnommen werden, daß besagte Stelle in der 2-Stundenverteilung erhöhte Aktivität zeigt. SCHLICHTER und McCLURE (1974) untersuchten die Radioaktivitätsverteilungen in 30 min. Intervallen nach Prolin-Injektion ins Rattenauge. Der längste Zeitraum, der von ihnen untersucht wurde, betrug 90 min. Für diese Zeit konnten sie 4-5 mm vom Bulbus entfernt ein Plateau feststellen.
Die beschriebenen Stellen liegen alle etwa in Höhe des Durchtritts des Sehnerven in den Canalis opticus. Als möglicher Erklärung für dieses Verhalten könnte man annehmen, daß der Durchmesser der Axone entlang ihres Verlaufs nicht konstant bleibt. Hiervon könnte eine Variabilität der Geschwindigkeit für verschiedene Axonabschnitte abgeleitet werden. OCHS (1971a, 1972b) konnte autoradiographisch zeigen, daß die maximale Transportgeschwindigkeit unabhängig vom Axondurchmesser ist. Diese Arbeiten zeigen jedoch nur, daß es keinen Unterschied in der Transportgeschwindigkeit bei Durchmesserschwankungen von Axon zu Axon gibt (interaxonale Kaliberschwankungen). Durchmesserschwankungen individueller Axone entlang ihres Verlaufs wurden nicht untersucht

(intraaxonale Kaliberschwankung).
Morphometrische Messungen an Querschnitten des Sehnerven ergaben, daß die Größe der Gesamtquerschnittsfläche des Nerven im Canalis opticus einem Minimum zustrebt. Sowohl nach proximal als auch nach distal nimmt diese Fläche signifikant zu (MEYER-KÖNIG et al., 1972).
Legt man diese Beobachtung zugrunde, so muß man annehmen, daß die Packungsdichte der Fasern hier am größten ist. Man könnte eine physiologische Einengung der Axone vermuten, die leichte Stauungserscheinung verursacht. Nach der Strömungslehre würde eine Verengung der Strombahn - entsprechend dem Bernoulli'schen Gesetz - eine Erhöhung der Geschwindigkeit bedeuten. Da für die Axonströmung jedoch kein Druckgradient verantwortlich ist, und da vom Axoplasma angenommen wird, daß es nicht-Newton'sche Eigenschaften besitzt (GROSS, 1975), können diese Voraussetzungen hier nicht gelten.
Bei Berücksichtigung der verschiedenen Modelle zum Mechanismus des schnellen axonalen Transports ergibt sich nur beim Gross'schen Mikrostrom-Modell eine Erhöhung der Transportgeschwindigkeit: Durch die Verminderung des Axondurchmessers und dadurch bedingtes Engertreten der Mikrotubuli resultiert aus der Überlagerung der Geschwindigkeitsprofile eine höhere Transportrate.
Bei allen anderen Modellen hingegen erfolgt eine Herabsetzung der Geschwindigkeit. Das Kleinerwerden des Axondurchmessers bedingt ein engmaschigeres Mikrotubulinetz. Da das Transportgut entlang den Mikrotubuli befördert wird, wäre an der Einengung eine sterische Behinderung die Folge, die zu einem Stau führt.

MEYER-KÖNIG et al., (1972) stellten jedoch auch fest, daß das Volumen der Markfasern bis zum Eintritt in den Canalis opticus

fast unverändert bleibt, hingegen nimmt es von hier aus bis zum Chiasma opticum signifikant zu. Ob diese Zunahme des Markfaservolumens im intracraniellen Abschnitt auf eine Zunahme der Markscheidendicke, auf eine Zunahme des Axondurchmessers oder auf eine Zunahme beider Komponenten zurückzuführen ist, konnte nicht entschieden werden (MEYER-KÖNIG et al., 1972). Im Zusammenhang mit den Untersuchungen von FRIEDE und SAMORAJSKI (1967) und BERNSTEIN (1966), die den linearen Zusammenhang zwischen Axondurchmesser und Markscheidendicke im peripheren bzw. zentralen Nervensystem nachgewiesen hatten, würde die Zunahme des Markfaservolumens im intracraniellen Verlauf auch eine Zunahme des Axonvolumens und somit auch des Axondurchmessers bedeuten.
Unter diesem Gesichtspunkt betrachtet, würde sich ein anderes Bild ergeben. Für das Modell von GROSS würde durch das Auseinandertreten der Mikrotubuli - infolge Zunahme des Axondurchmessers - eine Verlangsamung der Geschwindigkeit resultieren. Dies scheint unwahrscheinlich, da man Aktivitätsverteilungen hätte vorfinden müssen, die distal höhere Aktivitätswerte aufgewiesen hätten als proximal. Bei den anderen Modellen hätte eine Zunahme des Axondurchmessers im distalen Teil keine Änderung der Geschwindigkeit bewirkt.

Beachtenswert ist auch der Zeitpunkt des Auftretens der Erhöhung im 3. Sehnervensegment. Sie tritt nach SJÖSTRAND und HANSSON (1971) und den hier dargelegten Ergebnissen 2 Stunden nach der Injektion auf. SCHLICHTER und McCLURE (1974) fanden das Plateau nach 90 min. (längere Zeitspannen wurden von ihnen nicht untersucht). Es könnte sein, daß sich die Erhöhung erst manifestiert, wenn genügend Aktivität vorhanden ist. Dies wäre nach 1,5 Stunden bzw. 2 Stunden der Fall. Zu späteren Zeitpunkten,

z.B. 4 Stunden, hat sich die Aktivität proximal und distal davon so stark vermehrt, daß der geringe Unterschied untergeht.

Das bulbusnahe, erste Segment wurde zur Berechnung der Relativwerte nicht berücksichtigt, weil die Werte dieses Teilstückes zu sehr schwankten und in keinem festen Verhältnis zu dem nachfolgenden Abschnitt standen. Die Aussonderung wird durch den andersartigen Aufbau und die andersartige Blutversorgung, wie morphologische Ergebnisse zeigen, gerechtfertigt. Das erste Segment enthält einen Teil der Austrittszone. Diese gliedert sich in einen laminären und einen prälaminären Abschnitt. Das erste Segment umfaßt vorwiegend den prälaminären Abschnitt und allenfalls einen geringen Teil des laminären.
Vom Chiasma opticum zum Bulbus kann eine graduelle Zunahme der Kapillardichte beobachtet werden.
Eine sprunghafte Zunahme erfolgt an der Grenze zur Area prälaminaris (SCHLOTE, 1970). Wegen dieser stärkeren Blutversorgung muß mit einer stärkeren Markierung über das Gefäßsystem gerechnet werden, wie die Versuche bestätigt haben.
Wie den Ergebnissen zu entnehmen ist, kommen Diffusionsvorgänge als nennenswerte Störfaktoren nicht in Betracht. Auch diese Feststellung kann auf die Besonderheiten der Austrittszone zurückgeführt werden. Die Area prälaminaris ist durch breite gliöse Septen gekennzeichnet, die aus säulenförmig angeordneten Astrozyten bestehen. Die Zellmembranen der Astrozyten grenzen direkt an die Axolemmata der Nervenfasern. Durch die senkrecht zu den Axonen stehenden und sich kreuzenden Astrozytenfortsätze entsteht ein besonders dichtes Gefüge (SCHLOTE, 1970). Diese Architektonik läßt schon aus morphologischer Sicht den Schluß zu, daß für Diffusionsvorgänge schlechte Bedingungen herrschen. Die Ergebnisse bestätigen dies.

II. Die Transportgeschwindigkeit

Für die Transportrate des schnellen axonalen Transports im Sehnerven der Ratte wurde ein Wert von 168 mm/d ermittelt. Er wurde durch Division der Transportstrecke (vom Perikaryon bis zur Aktivitätsfront) durch die Versuchsdauer bestimmt. Jedoch enthält die auf diese Weise ermittelte Geschwindigkeit außer der reinen Transportzeit auch jene Zeit, die das Perikaryon für Aufnahme, Inkorporation und Einschleusung ins Transportsystem benötigt.
SAHENK und MENDELL (1979) bezeichnen die so gewonnene Geschwindigkeit als "down-flow-rate" (DFR). Sie wird von der reinen Transportgeschwindigkeit = "rate of fast axonal transport" (FATR) unterschieden. Die letztere wird aus der reinen Transportzeit errechnet, die man durch Abzug der Zeit, die für die perikaryalen Prozesse (somal-delay-Zeit) benötigt wird, von der Versuchsdauer ermittelt.
Bei Berücksichtigung der "somal-delay"-Zeit wurde für die eigenen Versuche eine Geschwindigkeit von 240 mm/d bestimmt.

In der Literatur gibt es nur zwei Quellen, in denen eine Geschwindigkeit für den Sehnerven der Ratte angegeben wird. SJÖSTRAND und HANSSON (1971) berichten von einer Rate von 120-140 mm/d. Da sie offensichtlich die somal-delay-Zeit nicht berücksichtigt hatten, muß man diese Geschwindigkeit als DFR im Sinne von SAHENK und MENDELL (1979) ansehen. Würde die Verzögerung im Perikaryon berücksichtigt werden, so resultierte ebenfalls eine Geschwindigkeit von über 200 mm/d.
SCHLICHTER und McCLURE (1974) stellten eine Weg-Zeit-Kurve für ein bestimmtes Aktivitätsniveau auf. Durch Bestimmung einer Regressionsgeraden fanden sie für 1000 cpm/mm eine Geschwindigkeit von 202 $\pm$ 8 mm/d und für 3000 cpm/mm einen Wert von 194 $\pm$ 54 mm/d. Mit dieser Methode wurde die reine Transportge-

schwindigkeit bestimmt.
Die eigenen Werte sind für beide Geschwindigkeiten höher als in den angegebenen Quellen, sowohl für die DFR als auch für die reine Transportgeschwindigkeit. Die letztere kommt dem oberen Grenzwert für das Aktivitätsniveau von 3000 cpm/mm in der Untersuchung von SCHLICHTER und McCLURE (1974) sehr nahe.

Vergleiche mit anderen Säugetieren zeigen für die Sehnerven von Kaninchen und Maus ähnliche Geschwindigkeiten. (KARLSSON und SJÖSTRAND, 1968; GRAFSTEIN et al., 1972). Nach Angaben von KARLSSON und SJÖSTRAND (1968, 1972 und 1973) beträgt die DFR im Kaninchenopticus bis zu 150 mm/d. Diese Angaben sind nicht sehr verschieden von den Ergebnissen SJÖSTRAND und HANSSONs und von den hier vorliegenden für die Ratte. Allerdings wurden für den Sehnerven des Kaninchens auch Werte über 240 mm/d (DFR) angegeben (FINK und KENNEDY, 1972; HENDRICKSON und COWAN, 1971). Für Fische wurden im visuellen System durchweg niedrigere Geschwindigkeiten beobachtet (ELAM und AGRANOFF, 1971; RAHMANN und WOLBURG, 1971; WOLBURG, 1979). Für sie wurden vor allem auch temperaturbedingt niedrigere Transportraten ermittelt als bei Warmblütern. So konnten GROSS und BEIDLER (1975) nach linearer Extrapolation einer Temperatur-Geschwindigkeits-Funktion im N. olfactorius von Lepisosteus osseus (garfish) die gleiche Geschwindigkeit finden, die OCHS (1972b) für den N. ischiadicus von Katzen angegeben hat. Dies gilt ebenso für die axonale Transportgeschwindigkeit im N. ischiadicus des Frosches, wie sie von EDSTRÖM und HANSON (1973) mitgeteilt wurde. Dies könnte im Sinne von OCHS für gleiche Transportgeschwindigkeiten unter isothermen Bedingungen sprechen (s.S. 11).
Im visuellen System jedoch scheint generell eine geringere Trans-

portgeschwindigkeit vorzuherrschen, die aber in sich auch wieder temperaturabhängig ist. Nach Anwendung der Geschwindigkeit-Temperatur-Funktion auch für den N. opticus von Kaltblütern dürfte sich somit eine Annäherung der Geschwindigkeiten an die Transportraten im Sehnerven von Warmblütern bemerkbar machen.

Wenn auch jetzt bei gleichen Versuchstieren und bei gleichen Fasersystemen Differenzen auftreten, so scheinen sie letztlich in der Versuchsanordnung, der Berechnung der Werte oder Meßfehlern begründet zu sein, die aber alle zusammen genommen noch nicht den Unterschied zu den Ochs'schen Werten erklären können. Ebenso wie es OCHS (1972a) gelang, für sieben verschiedene Säugetiere dieselbe Transportgeschwindigkeit von 410 mm/d im N. ischiadicus nachzuweisen, könnte es möglich sein, daß nach Ausschaltung oben genannter methodisch bedingter Unterschiede, auch für den N. opticus gleiche Transportgeschwindigkeiten für verschiedene Tiere gefunden werden. Die bisher vorliegenden Daten würden dann auf eine Geschwindigkeit um 200 mm/d deuten. Letzten Endes würde dies spezifische Geschwindigkeiten für verschiedene Fasersysteme bedeuten (z.B. auch im ZNS und PNS).

III. Der Einfluß von Cycloheximid

Cycloheximid ist ein Antibiotikum, das auf die Translationsprozesse bei der Proteinsynthese wirkt. Es verhindert die Freisetzung der t-RNA von der Donorseite der Ribosomen (OBRIG et al., 1971).

Wenn Cycloheximid bereits 5 min. nach Leucingabe injiziert wurde, so konnte keine Aktivität im Opticus vorgefunden werden, die über die Blutmarkierung hinausging. Dies bedeutet, daß zu diesem Zeitpunkt der Einbau des zuvor injizierten Leucins noch vollständig gehemmt werden konnte. Dieses Ergebnis steht in deutlichem Wi-

derspruch zu den von OCHS et al. (1970) ermittelten Resultaten. Dort konnte nur ein geringer Effekt von Proteinsynthesehemmern wie Cycloheximid oder Puromycin im N. ischiadicus der Katze festgestellt werden, wenn diese 5 min. nach Tracergabe appliziert wurden. Wurden die Proteinsyntheseblocker nach 20 min. und in noch größeren Intervallen nach der Injektion der Aminosäure gegeben, so waren sie unwirksam. Es resultierte jedesmal dieselbe Verteilung radioaktiver Verbindungen wie ohne Hemmer. Die Autoren schließen aus ihren Ergebnissen, daß der Hauptanteil der markierten Aminosäure sehr schnell inkorporiert wird.

Wenn in den eigenen Versuchen die Injektion von Cycloheximid erst 2 Stunden nach der Leucininjektion durchgeführt wurde, so war nach 2 weiteren Stunden die Menge des transportierten Materials stark reduziert. Dies bedeutet, daß sogar 2 Stunden nach Leucininjektion der Einbau der markierten Aminosäure in Proteine noch nicht abgeschlossen war.
Zu diesem Zeitpunkt muß also immer noch genügend freier Tracer zur Verfügung gestanden haben. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Resultaten für den N. opticus des Goldfisches: McEWEN und GRAFSTEIN (1968) konnten bis zu 3 Stunden nach Tracergabe eine Beeinflussung der Proteinsynthese mit Acetoxycycloheximid feststellen. Zwar stimmen die Resultate für den N. opticus des Goldfisches mit denen der Ratte überein, doch stehen beide im Gegensatz zu den Befunden, die für den N. ischiadicus der Katze gefunden wurden (OCHS et al., 1970). OCHS et al. (1970) hielten es für möglich, daß für die Unterschiede zu den Ergebnissen von McEWEN und GRAFSTEIN eine Speziesdifferenz in Frage käme.

Allerdings sollten auch methodisch bedingte Differenzen in Betracht gezogen werden, da wegen der verschiedenen Fasersysteme z.B. Unterschiede in den Injektionstechniken oder Unterschiede in den Diffusionsbedingungen der Proteinsynthesehemmer zu jeweils anderen Ergebnissen führen könnten.

Betrachtet man die relative Verteilung der Radioaktivität im N. opticus nach Cycloheximidgabe, so sieht man, daß sie - abgesehen von kleinen Schwankungen - identisch ist mit der Verteilung der Radioaktivität nach 4 Stunden ungestörten Transportes, obwohl die Absolutwerte wesentliche Unterschiede aufweisen. Wie aus Tab. I ersichtlich ist, bleibt zusätzlich die Gesamtaktivität der mit Cycloheximid behandelten Ratten deutlich unter den Werten des nach 2 Stunden ungestörten Transports zurück. Zum Zeitpunkt der Injektion von Cycloheximid befand sich also gerade diese Menge Aktivität im N. opticus. Weil sich diese Menge im Opticus nach Cycloheximidgabe wesentlich vermindert hat, und weil trotzdem die gleiche Relativverteilung vorgefunden wurde, darf der Schluß gezogen werden, daß der axonale Transport selbst ungestört geblieben ist. Dies kann in Übereinstimmung mit anderen Autoren festgestellt werden, die ebenfalls keinen Einfluß von Cycloheximid auf den Transport bereits synthetisierten Materials feststellen: Die Proteinsynthese interferiert nicht direkt mit dem Transport. BARONDES (1968) konnte dies für das Mäusegehirn, OCHS und JOHNSON (1969) für den Ischiadicus der Katze, EDSTRÖM und

MATTSSON (1972) in einer Inkubationskammer für den Frosch-ischiadicus zeigen. BUREŠOVÁ und TUČEC (1977) und BRIMIJOIN (1976) konnten die Unabhängigkeit des Transports von der Proteinsynthese für Acetylcholinesterase bzw. Dopamin-ß-hydroxylase nachweisen.

Aus der Gleichheit der Relativverteilungen der mit Cycloheximid behandelten und der unbehandelten Tiere muß noch ein weiterer Schluß gezogen werden: weil der kontinuierlich nach distal abfallende Gradient aufrecht erhalten wird, muß eine Freisetzung bereits synthetisierten Materials aus dem Speicherkompartiment im Perikaryon erfolgen. Wäre aus diesem Speicher kein Material mehr nachgeliefert worden, so hätte man nach Blockierung der Proteinsynthese eine nach distal ansteigende Aktivitätsverteilung vorfinden müssen. Solch ein Speicher wurde von OCHS et al. (1970) vorgeschlagen. Hier wird synthetisiertes Material gelagert, das später ins Transportsystem eingeschleust wird. BUREŠOVÁ und TUČEC (1977) berechneten die Größe des Speichers für Acetylcholinesterase. Nach Applikation von Cycloheximid konnten sie nur noch für eine beschränkte Zeit eine Akkumulation von AChE proximal einer Ligatur beobachten. Weil der Nachschub aus dem Speicher sistierte, konnte keine weitere Ansammlung vor der Ligatur mehr stattfinden. Nach ihren Berechnungen konnte aus dem Reservoir im Perikaryon noch 1,3 Stunden lang Material nachgeliefert werden.

IV. Der Einfluß der Perikaryonentfernung

Nachdem mit Cycloheximid gezeigt werden konnte, daß der axonale Transport nach Hemmung der Proteinsynthese weiterläuft, muß gefolgert werden, daß er unabhängig vom Perikaryon ist. Um diese

Feststellung weiter zu stützen, wurden 2 Stunden nach Tracerinjektion die Perikarya der Ganglienzellschicht durch Absaugung der Netzhaut von den Axonen abgetrennt und entfernt. Diese Entnahme erfolgte 1 und 2 Stunden nach Absaugung. Die Aktivitätsverminderung nach Absaugung muß in erster Linie auf ein Fortdauern des proximo-distalen, orthograden Transports zurückgeführt werden.

Grundsätzlich muß man zwei Überlagerungseffekte in Betracht ziehen. Dies ist zum einen der durch die Absaugung bedingte Materialverlust aus den peripheren Stümpfen und seine Folgen auf das benachbarte Axongebiet, und zum anderen eine Umkehr des Transports nach erfolgter Axonverletzung: eine läsionwärts gerichtete retrograde Strömung. Es gibt wenige Arbeiten, die sich mit den Strömungsverhältnissen im Läsionsgebiet und seiner Nachbarschaft in dieser frühen Phase nach Axonverletzung beschäftigen.

Nach Störung der Kontinuität der Axone konnte eine Umkehr des axonalen Transports festgestellt werden (PARTLOW et al., 1972). BISBY und BULGER (1977) berechneten nach Quetschung einen Zeitpunkt, nach dem die Umkehrung auftreten soll. Es wird mit 1,9 - 2,4 Stunden angegeben.

Nimmt man an, daß bei Durchtrennung der Axone ähnliche Verhältnisse vorliegen, so muß gefolgert werden, daß die Umkehrung des axonalen Transports als Störfaktor für die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse kaum von Bedeutung ist, da der in Frage kommende Zeitraum 2 Stunden nicht übersteigt.

Demgegenüber sind die Störungen durch die Absaugung und ihre Folgen auf das prälaminäre Sehnervensegment höher zu bewerten. Wie aus Abb. 13 zu ersehen ist, reißen die Axone direkt am laminären Teil der Austrittszone ab. Der initiale Materialverlust beschränkt sich also auf den Skleradurchtritt, der aber nicht erfaßt wurde (1. Segment). Man kann sich vorstellen,

daß durch die Perikaryaentfernung eine Plasmabewegung - vorwiegend im angrenzenden 1. Segment - in Richtung auf die Läsion auftritt. Dies dürfte aber besonders auf die Relativdarstellung keinen bedeutenden Einfluß gehabt haben, da hier ohnehin dieses Teilstück nicht berücksichtigt wurde.

Die Menge der Aktivität, die im gesamten Nerven vorgefunden wurde, hatte sich nach Netzhautabsaugung beträchtlich reduziert im Vergleich mit den intakten Kontrollnerven. Vergleicht man die Tiere, denen die Retina entfernt worden war, mit jenen, die Cycloheximid erhalten hatten - beide Eingriffe erfolgten 2 Stunden nach Leucininjektion - so erkennt man, daß die Gesamtaktivität im Sehnerven bei den Ratten, denen die Netzhaut entfernt worden war, noch weniger beträgt, als bei denen, die mit dem Synthesehemmer behandelt worden waren. Dies trifft sowohl für jene Ratten zu, die 1 Stunde, als auch für jene, die 2 Stunden nach Retinaabsaugung untersucht worden waren. Bei den letzteren war die Gesamtaktivität nochmals gegenüber den ersteren vermindert. Im Hinblick auf die mit Cycloheximid behandelten Ratten läßt sich sagen, daß bei ihnen auch nach Ausschaltung der Proteinsynthese bereits synthetisiertes Material aus dem perikaryalen Speicher nachfließen konnte. Deshalb war die Gesamtaktivität bei diesen Tieren höher als bei den Ratten, denen die Perikarya entfernt worden waren.

Da die beschriebenen retrograden Überlagerungserscheinungen an der starken Aktivitätsreduktion wenig beteiligt waren, kann diese nur auf den ungestört weiter ablaufenden axonalen Transport in den von ihren Perikarya isolierten Fasern zurückgeführt werden. OCHS und RANISH (1969) untersuchten das Problem der Isolierung des Axons vom Perikaryon mit Ligaturexperimenten am N. ischiadicus der Katze. Markiertes Material, das bereits die Stelle der

Ligatur passiert hatte, bewegte sich weiter den Nerven entlang mit gleicher Geschwindigkeit wie bei der Kontrolle. Ähnliche Ergebnisse aus Ligaturexperimenten wurden von HESLOP und HOWES (1972) in Nerven von Mollusken festgestellt. OCHS und HOLLINGSWORTH (1971) untersuchten ebenfalls den axonalen Transport nach Durchtrennung direkt distal der Ganglien. Sie stellten fest, daß die Geschwindigkeit in den abgetrennten Axonen dieselbe war wie in den intakten Kontrollnerven. Dies konnte für den Olfactorius von Lepisosteus osseus (garfish) und Esox lucius (pike) ebenfalls nachgewiesen werden (GROSS und BEIDLER, 1975, 1973; GROSS und KREUTZBERG, 1978).

In den eigenen Versuchen hat sich die Gesamtmenge der Aktivität so drastisch vermindert, daß nur noch geringe Mengen in jedem Segment verbleiben. Das meiste Material, das mit dem schnellen axonalen Transport befördert wurde , muß also den beobachteten Abschnitt des visuellen Systems bereits in Richtung Tractus opticus verlassen haben. Man muß annehmen, daß die jetzt noch vorgefundene Aktivität von Material stammt, das für das Axon selbst bestimmt war.

Nachtrag:
In einer neueren Mitteilung geben GOODRUM et al. (1979) die Transportgeschwindigkeit für 3H-Fucose markierte Glykoproteine im optischen System der Ratte mit 200 mm/d an.
Sie liegt damit ebenfalls im Bereich der von uns gefundenen Werte für den schnellen axonalen Proteintransport.

F Zusammenfassung

Der schnelle axonale Transport von Proteinen im Nervus opticus der Ratte wurde nach Injektion von ^{3}H-Leucin in den rechten Bulbus untersucht. Die Radioaktivitätsverteilung der in Proteine eingebauten Aminosäuremoleküle wurde entlang des N. opticus nach 1, 2 und 4 Stunden ermittelt.

Es wurde eine leicht erhöhte Radioaktivität an der Stelle des Durchtritts des Sehnerven in den Canalis opticus festgestellt. Als mögliche Ursache wurde ein dort etwas verminderter Axondurchmesser diskutiert.

Die über das Gefäßsystem in den Sehnerven eingebrachte Radioaktivität wurde durch Messung des jeweiligen kontralateralen Sehnerven bestimmt. Sie war gering im Verhältnis zu der axonal transportierten Aktivität.

Die Geschwindigkeit des schnellen axonalen Transports wurde bestimmt. Sie beträgt 168 mm/d. Wenn die Prozesse, denen die markierten Aminosäuren im Perikaryon unterworfen sind (Aufnahme, Synthese, Kopplung an das Transportsystem), berücksichtigt werden, resultiert eine Transportgeschwindigkeit von 240 mm/d.

Die Applikation des Proteinsynthesehemmers Cycloheximid 5 min. nach Leucininjektion in den Bulbus verhinderte das Auftreten von axonal transportierten markierten Proteinen vollständig. Wenn Cycloheximid 2 Stunden nach Leucin gegeben wurde, so konnte nach weiteren 2 Stunden eine wesentlich geringere Radioaktivität festgestellt werden als im Vergleichsnerven. Der Einbau von Leucin war also nach 2 Stunden noch nicht beendet. Das Profil radio-

aktiver Verbindungen entsprach der Kontrolle.

In weiteren Versuchen wurde der axonale Transport markierter Proteine in isolierten Sehnervenfasern geprüft. Die Isolierung der Axone von den Zellkörpern der Neurone wurde durch Absaugung der Retina erreicht. Die Abtrennung des Sehnerven erfolgte im laminären Anteil der Austrittszone.
Wurde die Abtrennung 2 Stunden nach Leucininjektion vorgenommen, so war nach einer bzw. zwei weiteren Stunden eine extreme Aktivitätsverminderung feststellbar.

Die Aufrechterhaltung der Aktivitätsverteilung nach Cycloheximidbehandlung und nach Perikaryaentfernung im Vergleich zu der Kontrolle spricht für eine Fortsetzung des Transports auch nach Abtrennung des Axons vom Perikaryon. Das bedeutet, daß im Untersuchungszeitraum der Mechanismus des schnellen axonalen Transports unabhängig vom Perikaryon funktioniert.

G Literaturverzeichnis

AKERA, T., HOOK, J.B., TOBIN, T., BRODY, T.M.: Cardiac glycoside sensitivity of (Na^+-K^+)-activated ATPase in newborn rats.
Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol. 4, 699-706 (1972).

ALLEN, R.D.: Evidence for firm linkages between microtubules and membrane-bounded vesicles.
J. Cell Biol. 64, 497-503 (1975).

ANDERSON, K.-E., EDSTRÖM, A.: Effects of nerve blocking agents on fast axonal transport of proteins in frog sciatic nerves in vitro.
Brain Res. 50, 125-134 (1973).

BARONDES, S.H.: Further studies of the transport of protein to nerve endings.
J. Neurochem. 15, 343-350 (1968).

BERL, S., PUSKIN, S., NICKLAS, W.J.: Actomyosin-like protein in brain.
Science 179, 441-446 (1973).

BERNSTEIN, J.J.: Relationship of cortico-spinal tract growth to age and body weight in the rat.
J. Comp. Neur. 127, 207-218 (1966).

BISBY, M.A., BULGER, V.T.: Reversal of axonal transport at a nerve chrush.
J. Neurochem. 29, 313-320 (1977).

BOEGMAN, R.J., WOOD, P.L.: Monoamines as possible mediators in the regulation of fast axoplasmic flow.
J. Neurochem. 26, 737-740 (1976).

BOEGMAN, R.J., WOOD, P.L., PINAUD, L.: Increases axoplasmic flow associated with pargyline under conditions which induce a myopathy.
Nature Vol. 253, 51-52 (1975).

BONDY, S.C.: Axonal migration of various ribonucleic acid species along the optic tract of the chick.
J. Neurochem. 19, 1769-1776 (1972).

BRADLEY, W.G., MURCHISON, D., DAY, M.J.: The range of velocities of axoplasmic flow. A new approach, and its application to mice with genetically inherited spinal muscular atrophy.
Brain Res. 35, 185-197 (1971).

BRIMIJOIN, S.: Stop flow: A new technique for measuring axonal transport, and its application to the transport of dopamine-ß-hydroxylase.
J. Neurobiol. 6, 379-394 (1975).

BRIMIJOIN, S.: Cycloheximide alters axonal transport and subcellular distribution of dopamine-ß-hydroxylase.
J. Neurochem. 26, 35-40 (1976).

BUREŠOVÁ, M., TUČEK, St.: Cessation of axonal transport of acetylcholinesterase after administration of cycloheximide.
Brain Res. 124, 379-384 (1977).

BYERS, M.R.: Structural correlates of rapid axonal transport: Evidence that microtubules may not be directly involved.
Brain Res. 75, 97-113 (1974).

CANCALON, P., BEIDLER, L.M.: Differences in the composition of the polypeptides deposited in the axon and the nerve terminals by fast axonal transport in the garfish olfactory nerve.
Brain Res. 121, 215-227 (1977).

CHOU, S.M.: Axoplasmic flow rates in the monkey optic system.
Neurology, Minneapolis 20, No. 6 (1970).

CSANYI, V., GERVAI, J., LAJTHA, A.: Axoplasmic transport of free amino acids.
Brain Res. 56, 271-284 (1973).

CUENOD, M., SCHONBACH, J.: Synaptic proteins and axonal flow in the pigeon visual pathway.
J. Neurochem. 18, 809-816 (1971).

DAVISON, P.F.: Neuronal fibrillar proteins and axoplasmic transport.
Brain Res. 100, 73-80 (1975).

DRAVID, A.R., HAMMERSCHLAG, R.: Axoplasmic transport of proteins in vitro in primary afferent neurons of frog spinal cord: effect of Ca^{2+} -free incubation conditions.
J. Neurochem. 24, 711-718 (1975).

DROZ, B., KOENIG, H.L., GIAMBERARDINO, L.Di.: Axonal migration of protein and glycoprotein to nerve endings. I. Radioautography analysis of the renewal of protein in nerve endings of chicken ciliary ganglion after intracerebral injection of (3H) lysine.
Brain Res. 60, 93-127 (1973).

DROZ, B.: Renewal of synaptic proteins.
Brain Res. 62, 383-394 (1973).

DROZ, B.: How axonal transport contributes to maintenance of the myelin sheath.
Trends in Neuroscience, Juni 1979, S. 146-148.

DROZ, B., RAMBOURG, A., KOENIG, H.L.: The smooth endoplasmic reticulum: structure and role in the renewal of axonal membrane and synaptic vesicles by fast axonal transport.
Brain Res. 93, 1-13 (1975).

DROZ, B., GIAMBERARDINO, L. Di, KOENIG, H.L., BOYENVAL, J., HASSIG, R.: Axon-myelin transfer of phospholipid components in the course of their axonal transport as visualized by radioautography.
Brain Res. 155, 347-353 (1978).

EDSTRÖM, A.: Effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} on rapid axonal transport of proteins in vitro in frog sciatic nerves.
J. Cell Biol. 61, 812-818 (1974).

EDSTRÖM, A.: Ionic requirements for rapid axonal transport in vitro in frog sciatic nerves.
Acta Physiol. scand. 93, 104-112 (1975).

EDSTRÖM, A., HANSON, M.: Temperature effects on fast axonal transport of proteins in vitro in frog sciatic nerves.
Brain Res. 58, 345-354 (1973).

EDSTRÖM, A., HANSON, M.: The mechanisms of fast axonal transport: A pharmacological approach.
Neuropharmacology 14, 181-188 (1975).

EDSTRÖM, A., HANSSON, H.-A., NORSTRÖM, A.: Inhibition of axonal transport in vitro in frog sciatic nerves by chlorpromazine and lidocaine.
Z. Zellforsch. 143, 53-69 (1973).

EDSTRÖM, A., MATTSSON, H.: Fast axonal transport in vitro in the sciatic system of the frog.
J. Neurochem. 19, 205-221 (1972).

ELAM, J.S., AGRANOFF, B.W.: Rapid transport of protein in the optic system of the goldfish.
J. Neurochem. 18, 375-387 (1971).

FINK, B.R., BYERS, M.R., MIDDAUGH, M.E.: Dynamics of colchicine effects on rapid axonal transport and axonal morphology.
Brain Res. 56, 299-311 (1973).

FINK, B.R., KENNEDY, R.D.: Rapid axonal transport: Effect of halothane anesthesia.
Anesthesiology 36, 13-20 (1972).

FORMAN, D.S., McEWEN, B.S., GRAFSTEIN, B.: Rapid transport of radioactivity in goldfish optic nerve following injections of labeled glucosamine.
Brain Res. 28, 119-130 (1971).

FRIEDE, R.L., SAMORAJSKI, T.: Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice.
J. Comp. Neur. 130, 223-232 (1967).

FRIZELL, M., SJÖSTRAND, J.: The axonal transport of slowly migrating 3-H-leucine labelled proteins and the regenerating rate in regenerating hypoglossal and vagus nerves of the rabbit.
Brain Res. 81, 267-283 (1974).

GARCIA, A.G., KIRPEKAR, S.M., PRAT, J.C., WAKADE, A. R.: Metabolic and ionic requirements for the axoplasmic transport of dopamine ß-hydroxylase.
J. Physiol. 241, 809-821 (1974).

GRAFSTEIN, B., MURRAY, M., INGOGLIA, N.A.: Protein synthesis and axonal transport in retinal ganglion cells of mice lacking visual receptors.
Brain Res. 44, 37-48 (1972).

GRAFSTEIN, B.: Principles of anterograde axonal transport in relation to studies of neuronal connectivity.
In: The use of axonal transport for studies of neuronal connectivity. Ed. by W.M. COWAN, M. CUENOD. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier Sci.Publ.Comp. 1975, chap. 3, S. 47-67.

GROSS, G.W.: The effect to temperature on the rapid axoplasmic transport in C-fibers.
Brain Res. 56, 359-363 (1973).

GROSS, G.W.: The Microstream concept of axoplasmic and dendritic transport.
In: Advances in Neurology 12, Physiological Pathology of Dendrites, ed. by G.W. Kreutzberg. New York: Raven Press, 1975, p. 283-296.

GROSS, G.W., BEIDLER, L.M.P Fast axonal transport in the C-Fibers of the garfish olfactory nerve.
J. Neurobiol. 4, 413-428 (1973).

GROSS, G.W., BEIDLER, L.M.: A quantitative analysis of isotope concentration profiles and rapid transport velocities in the C-Fibers of the garfish olfactory nerve.
J. Neurobiol. 6, 213-232 (1975).

GROSS, G.W., KREUTZBERG, G.W.: Rapid axoplasmic transport in the olfactory nerve of the pike: I. Basic transport parameters for proteins and amino acids.
Brain Res. 139, 65-76 (1978).

GROSS, G.W., WEISS, D.G.: Subcellular fractionation of rapidly transported axonal material in olfactory nerve: evidence for a size-dependent molecule separation during transport.
Neuroscience Letters 5, 12-20 (1977).

HAMMERSCHLAG, R., BAKHIT, Ch., CHIU, A.Y., DRAVID, A. R.: Role of calcium in the initiation of fast axonal transport of protein: effects of divalent cations.
J. Neurobiol. 8, 439-451 (1977).

HAMMERSCHLAG, R., CHIU, A.Y., DRAVID, A.R.: Inhibition of fast axonal transport of (3H) protein by cobalt ions.
Brain Res. 114, 353-358 (1976).

HAMMERSCHLAG, R., DRAVID, A.R., CHIU, A.Y.: Mechanism of axonal transport: a proposed role for calcium ions.
Science 188, 273-275 (1975).

HANSON, M.: A new methode to study fast axonal transport in vivo.
Brain Res. 153, 121-126 (1978).

HANSON, M., EDSTRÖM, A.: Fast axonal transport: effects of antimitotic drugs and inhibitors of nergy metabolism on the rate and amount of transported protein in frog sciatic nerves. J. Neurobiol. 8, 97-108 (1977).

HENDRICKSON, A.E., COWAN, W.M.: Changes in the rate of axoplasmic transport during postnatal development of the rabbit's optic nerve and tract. Exp. Neurol. 30, 403-422 (1971).

HENDRICKSON, A.E.: Electron microscopic distribution of axoplasmic transport. J. comp. Neurol. 144, 381-398 (1972).

HESLOP, J.P.: Axonal flow and fast transport in nerves. Advanc. comp. physiol. Biochem. 6, 94-163 (1975).

HESLOP, J.P., HOWES, E.A.: Temperature and inhibitor effects fast axonal transport in a molluscan nerve. J. Neurochem. 19, 1709-1716 (1972).

HINES, J.F., GARWOOD, M.M.: Release of protein from axons during rapid axonal transport: an in vitro preparation. Brain Res. 125, 141-148 (1977).

HOFFMAN, P.N., LASEK, R.J.: The slow component of axonal transport. J. Cell Biol. 66, 351-366 (1975).

HUNT, S.P., KÜNZLE, H.: Bidirectional movement of label and transneuronal transport phenomena after injection of (3H) adenosine into the central nervous system. Brain Res. 112, 127-132 (1976).

IQBAL, Z., OCHS, S.: Fast axoplasmic transport of a calcium-binding protein in mammalian nerve. J. Neurochem. 31, 409-418 (1978).

JASINSKI, A., GORBMAN, A., HARA, T.J.: Rate of movement and redistribution of stainable neurosecretory granules in hypothalamic neurons. Science 154, 776-778 (1966).

JACKSON, P., DIAMOND, J.: Colchicine block of cholinesterase transport in rabbit sensory nerves without interference with the long-term viability of the axons. Brain Res. 130, 579-584 (1977).

JEFFREY, P.L., AUSTIN, L.: Axoplasmic transport. Progr. Neurobiol. 2, 207-255 (1973).

KARLSSON, J.-O.: Proteins of axonal transport: Investigation of solubility characteristics and behaviour in gel filtration. J. Neurochem. 27, 1135-1143 (1976).

KARLSSON, J.-O.: Is there an axonal transport of amino acids? J. Neurochem. 29, 615-617 (1977).

KARLSSON, J.-O., SJÖSTRAND, J.: Transport of labelled proteins in the optic nerve and tract of the rabbit. Brain Res. 11, 431-439 (1968).

KARLSSON, J.-O., SJÖSTRAND, J.: Synthesis, migration and turnover of protein in retinal ganglion cells. J. Neurochem. 18, 749-767 (1971).

KARLSSON, J.-O., SJÖSTRAND, J.: Axonal transport of proteins in retinal ganglions cells. Characterization of the transport to the superior colliculus. Brain Res. 47, 185-194 (1972a).

KARLSSON, J.-O., SJÖSTRAND, J.: Axonal transport of proteins in retinal ganglions cells. Amino acid incorporation into rapidly transported proteins and distribution of radioactivity to the lateral geniculate body and the superior colliculus. Brain Res. 37, 279-285 (1972b).

KENNEDY, R.D.: The effects of undernutrition on the rate of axonal transport in rabbit vagus nerves. Brain Res. 76, 531-533 (1974).

KERKUT, G.A.: Axoplasmic transport. Comp. Biochem. Physiol. Part A. Comp. Physiol. 51, 701-704 (1975).

KHAN, M.A., OCHS, S.: Magnesium or calcium activated ATPase in Mammalian nerve. Brain Res. 81, 413-426 (1974).

KIDWAY, A.M., OCHS, S.: Components of fast and slow phases of axoplasmic flow. J. Neurochem. 16, 1105-1112 (1969).

KREUTZBERG, G.W.: Neuronal dynamics and axonal flow, IV. Blockage of intraaxonale enzyme transport by colchicine. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 62, 722-728 (1969).

KREUTZBERG, G.W., SCHUBERT, P.: The cellular dynamics of intraneuronal transport.
In: The use of axonal transport for studies of neuronal connectivity. Ed. by W.M. COWAN, M. CUENOD. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier Sci. Publ. Comp. 1975, chap. 5, S. 85-112.

KREYSZIG, E.: Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Göttingen: Vanderhoeck und Ruprecht (1975) 5. Auflage.

KRUGER, L., SAPORTA, S.: Axonal transport of (3H) adenosine in visual and somatosensory pathways. Brain Res. 122, 132-136 (1977).

KRYGIER-BREVART, V., WEISS, D.G., MEHL, E., SCHUBERT P., KREUTZBERG, G.W.: Maintenance of synaptic membranes by the fast axonal flow. Brain Res. 77, 97-110 (1974).

LASEK, R.J.: Protein transport in neurons. International review of neurobiology 13, 289-324 (1970).

LEESTMA, J.E.: Velocity measurements of particulate neuroplasmic flow in organized mammalian CNS tissue cultures. J. Neurobiol. 7, 173-183 (1975).

LISSNER, J., HUG, O.: Radiologie. Stuttgart: Enke (1975).

LORENZ, T., WILLARD, M.: Subcellular fractionation of intraaxonally transport polypeptides in the rabbit visual system. Proc. Acad. Sci. USA 75, 505-509 (1976).

LUBINSKA, L.: On axoplasmic flow. Int. Rev. Neurobiol. 17, 241-296 (1975).

LUBINSKA, L.: Axoplasmic streaming in regenerating and in normal nerve fibres. Prog. Brain Res. 13, 1-71 (1964)

LUBINSKA, L., NIEMIERKO, S.: Velocity and intensity of bidirectional migration of acetylcholinesterase in transected nerves. Brain Res. 27, 329-342 (1971).

MACHISIO, P.C., GREMO, F.: The axoplasmic transport of proteins along the optic pathway of newly hatsched chicks: The blocking effects of colchicine and vinblastine.
Proc. Int. Meet., Int. Soc., Neurochem., 3rd (1971) 153

McEWEN, B.S., GRAFSTEIN, B.: Fast and slow components in axonal transport of protein.
J. Cell Biol. 38, 494-508 (1968).

MEYER-KÖNIG, D., TREFF, W.M., SCHLOTE, W.: Morphometrische Befunde zum submikroskopischen Aufbau des Sehnerven der Ratte.
Z. Zellforsch. 133, 249-265 (1972).

MIANI, N.: Analysis of the somato-axonal movement of phospholipids in the vagus and hypoglossal nerves.
J. Neurochem. 10, 859-874 (1963).

MIANI, N.: Proximo-distal movement of phospholipid in axoplasm of the intact and regenerating neurons.
Progress in Brain Res. 13, 115-126 (1964).

NIEMIERKO, S., KOWALSKA, K.: The effect of cycloheximide on the activity of lactate dehydrogenase in transected peripheral nerves of the dog and the rat.
Comp. Biochem. Physiol. 48 B, 211-223 (1974).

OBRIG, T.G., CULP, W.J., McKEEHAN, W.L., HARDESTY, B.: The mechanism by which cycloheximide and related glutarimide antibiotics inhibit peptide synthesis on reticulocyte ribosomes.
J. Biological Chemistry 246, 174-181 (1971).

OCHS, S.: Characteristics and a model for fast axoplasmic transport in nerve.
J. Neurobiol. 2, 331-345 (1971a).

OCHS, S.: The dependence of fast transport in mammalian nerve fibres on metabolism.
Acta neuropath. (Berl.) Suppl. V , 86-96 (1971b).

OCHS, S.: Rate of fast axoplasmic transport in mammalian nerve fibers.
J. Physiol. 227, 627-645 (1972a).

OCHS, S.: Fast transport of materials in mammalian nerve fibers. Science 176, 252-260 (1972b).

OCHS, S.: Systems of material transport in nerve fibers (axoplasmic transport) related to nerve function and trophic control. Ann. N.Y., Acad. Sci. 228, 202-223 (1974a).

OCHS, S.: Axoplasmaic transport - energy metabolism and mechanism.
In: The vertebrate peripheral nervous system. Ed.: Hubbard J.I., Plenum Press N.Y. (1974b) chap. 3, S. 47-72.

OCHS, S., HOLLINGSWORTH, D.: Dependence of fast axoplasmic transport in nerve on oxidative metabolism.
J. Neurochem. 18, 107-114 (1971).

OCHS, S., JOHNSON, J.: Fast and slow phases of axoplasmic flow in ventral root nerve fibres.
J. Neurochem. 16, 845-853 (1969).

OCHS, S., RANISH, N.: Characteristics of the fast transport system in mammalian nerve fibers.
J. Neurobiol. 2, 247-261 (1969).

OCHS, S., SABRI, M.I., RANISH, N.: Somal site of synthesis of fast transported materials in mammalian nerve fibers.
J. Neurobiol. 1, 329-344 (1970).

OCHS, S., SMITH, C.: Low temperature slowing and cold-block of fast axoplasmic transport in mammalian nerves in vitro.
J. Neurobiol. 6, 85-102 (1975).

OCHS, S., WORTH, R.: Batrachotoxin block of fast axoplasmic transport in mammalian nerve fibers.
Science 187, 1087-1089 (1975).

OCHS, S., WORTH, R.M., CHAN, Shew-Yin: Calcium-requirement for axoplasmic transport in mammalian nerve.
Nature 270, 748-750 (1977).

PARTLOW, L.M., ROSS, C.D., MOTWANI, R., McDOUGAL, jr. D.B.: Transport of axonal enzymes in surviving segments of frog sciatic nerve.
J. Physiol. 60, 388-405 (1972).

PAULSON, J.C., McCLURE, W.O.: Microtubules and axoplasmic transport.
Brain Res. 73, 333-337 (1974).

PRICE, M.T.: The effects of colchicine and lumicolchicine on the rapid phase of axonal transport in the rabbit visual system.
Brain Res. 77, 497-501 (1974).

PUSZKIN, S., NICKLAS, W.J., BERL, S.: Actomyosin-like protein in brain: Subcellular distribution.
J. Neurochem. 19, 1319-1333 (1972).

RAHMANN, H., WOLBURG, H.: Intraaxonlaer Transport von 3H-Uridin-Verbindungen im Tractus opticus von Teleosteern.
Experientia 27/8, 903-904 (1971).

SABRI, M.I., OCHS, S.: Characterization of fast and slow transported proteins in dorsal root and sciatic nerve of cat.
J. Neurobiol. 4, 145-165 (1973).

SAHENK, Z., MENDELL, J.R.: Analysis of fast axoplasmic transport in nerve ligation and adriamycin-induced neuronal perikaryon lesions.
Brain Res. 171, 41-53 (1979).

SAMSON, F.E.: Mechanism of axoplasmic transport.
J. Neurobiol. 2, 347-360 (1971).

SCHLICHTER, D.J.; McCLURE, W.O.: Dynamics of axoplasmic transport in the optic system of the rat.
Exp. Brain Res. 21, 83-95 (1974).

SCHMITT, F.O.: Fibrous proteins neuronal organelles.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 60, 1092-1101 (1968).

SCHLOTE, W.: Nervus opticus und experimentelles Trauma. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Neurologie und Psychiatrie 131, Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1970.

SCHUBERT, P., KREUTZBERG, G.W.: Axonal transport of adenosine and uridine derivatives and transfer to postsynaptic neurons.
Brain Res. 76, 526-530 (1974).

SIEGEL, L.G., McCLURE, W.O.: Fractionation of protein carried by axoplasmic transport. II. Comparison in the rat of proteins carried to the optic relay nuclei.
Neurobiology 5, 167-177 (1975).

SJÖSTRAND, J., HANSSON, H.-A.: Effect of colchicine on the transport of axonal proteine in the retinal ganglion cells of the rat.
Exp. Eye Res. 12, 261-269 (1971).

SJÖSTRAND, J., KARLSSON, J.-O.: Axoplasmic transport in the optic nerve and tract of the rabbit: A biochemical and radioautographic study.
J. Neurochem. 16, 833-844 (1969).

SJÖSTRAND, J., KARLSSON, J.-O., MARCHISIO, P.C.: Axonal transport in growing and mature retinal ganglion cells.
Brain Res. 62, 395-397 (1973).

SMITH, D.S., JÄRLFORS, U., BERANEK, R.: The organization of synaptic axoplasm in the lamprey (petromyzon marinus) central nervous system.
Journal of Cell Biology 46, 199-219 (1970).

SOMERVILLE, M., BRADLEY, W.G.: Axoplasmic flow in myelinated and unmyelinated nerves.
Brain Res. 124, 393-402 (1977).

TAKENAKA, T., HORIE, H., SUGITA, T.: New technique for measuring dynamic axonal transport and its application to temperature effects.
J. Neurobiol. 9, 317-324 (1978).

TUČEK, S.: Transport and changes of activity of choline acetyltransferase in the peripheral stump of an interrupted nerve.
Brain Res. 82, 249-261 (1974).

TUČEK, S.: Transport of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase in the central stump and isolated segments of a peripheral nerve.
Brain Res. 86, 259-270 (1975).

WEISS, D.G., KRYGIER-BREVART, V., GROSS, G.W., KREUTZBERG, G.W.: Rapid axoplasmic transport in the olfactory nerve of the pike. II. Analysis of transported proteins by SDS gel electrophoresis.
Brain Res. 139, 77-87 (1978).

WEISS, P.A., HISCOE, H.: Experiments on the mechanism of nerve growth.
J. Exp. Zool. 107, 315-396 (1948).

WOLBURG, H.: Intraaxonaler Transport von Ethidium-Bromid-sensitiven RNS-und niedermolekularen 3H-Uridin-Verbindungen im Tractus opticus von Teleosteern.
Exp. Brain Res. 15, 348-363 (1972).

WOLBURG, H.: Evidence for the involvement of the Na^+-K^+-ATPase in the mechanism of axonal protein and nucleoside transport.
Z. Naturf. 31c, 683-686 (1976).

WOLBURG, H.: Axonaler Stofftransport, Degeneration und Regeneration im Zentralnervensystem. Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen Axon und Nervenzellkörper sowie Axon und Glia am visuellen System des Goldfisches.
Habilitationsschrift Tübingen (1979).

WUNDERLICH, F.: Mikrotubuli.
Biologie in unserer Zeit 1, 21-27 (1977).

Nachtrag:

GOODRUM, J.F., TOEWS, A.D., MORELL, P.: Axonal transport and metabolism of 3H fucose- and 35-S-sulfate-labeled macromolecules in the rat visual system.
Brain Res., 176, 255-272 (1979)

Herrn Prof. Dr. med. W. Schlote möchte ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Arbeit herzlich danken.
Herrn Dr. rer. nat. habil. H. Wolburg danke ich für die stete Hilfe und Bereitschaft zur Diskussion.
Für die Überlassung des Gerätes und für die freundliche Hilfeleistung bei den Szintillationsmessungen bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. K. Harzer vom Institut für Hirnforschung der Universität.
Für technische Hilfe gilt mein Dank Frau Dr. rer. nat. G. Kurz-Isler.
Herrn Dürr von der technischen Werkstatt des Physiologischen Instituts der Universität danke ich für den Bau des Schneideapparates.
Frau B. Sabrowski danke ich für die Anfertigung des Manuskripts.

LEBENSLAUF

Am 24.9.1955 wurde ich, Helmut Elmar Wagner, als Sohn des Helmut Wagner und seiner Ehefrau Pia, geborene Anderwerth, in Ulm / Donau geboren.

Die Grundschule besuchte ich in Eislingen / Fils und in Lichtenstein bei Reutlingen.

Das Abitur legte ich im Jahre 1974 am Gymnasium Pfullingen ab.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich das Medizinstudium an der Eberhard - Karls - Universität Tübingen.

Am 22.10.1981 bestand ich das Medizinische Staatsexamen.